

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Ingeniería Química

**CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE FRUTA
CORTADA "*READY TO EAT*"**



Memoria y Anexos

Autor: Clara Álvarez Berrocal
Director: María Pilar Almajano Pablos
Convocatoria: Junio 2019

Resum

El consum de fruita mínimament processada (IV gamma) ha anat en augment al llarg dels últims anys deguts al canvi de l'estil de vida dels consumidors. Per una banda, cada cop donen més importància a una alimentació sana i equilibrada y per l'altre, es disposa de poc temps, pel que es busca lo més ràpid i còmode per poder consumir aquest tipus d'aliment (és a dir, ja tallats i llestos per menjar). La fruita, pel seu origen, és fàcilment degradable, el que fa que es perdin vitamines i pugui tenir una aparença poc idònia pel consumidor (inclús trobant-se dins el període de vida útil). Els canvis poden afectar la qualitat, l'aspecte (visible pel consumidor) i la composició.

L'objectiu principal del projecte és estudiar les característiques fisicoquímiques de fruita envasada individualment i barrejada, per tal d'establir si una combinació d'aquestes podria augmentar la seva durabilitat. És a dir, l'envasat de varies fruites diferents al mateix paquet pugui augmentar la vida útil del producte.

Les fruites escollides per realitzar el projecte han sigut el kiwi, el mango, la taronja i la pinya. Els criteris d'elecció han sigut: disponibilitat de la fruita al llarg de totes les temporades i tipus de respiració de cadascuna. A més a més, són molt populars i atractives pel consumidor.

S'ha realitzat un seguiment de paràmetres fisicoquímics que habitualment es fan servir com indicador de qualitat de la fruita, com són: gasos de l'envàs, pèrdua d'aigua, fermesa, sucres, activitat antirradicalària (que inclou Polifenols Totals, DPPH, ABTS, FRAP i ORAC), contaminació microbiològica, vitamina C, pH i acidesa titlable.

S'han trobat diferències significatives entre les fruites soles i les del bol del *mix*. La respiració augmenta al trobar-se la fruita barrejada. L'índex de maduresa (calculat mitjançant els paràmetres sucres i acidesa titlable) indica que el kiwi (tan sol como al bol del *mix*) es degrada a la mateixa velocitat. La resta de fruites semblen degradar-se més ràpidament si s'envasen de manera conjunta. Les propietats antirradicalàries, des d'un punt de vista global, són millor a la taronja, mentre que els valors inferiors s'han obtingut pel mango que, però, sembla experimentar una millora important d'aquestes propietats al trobar-se al bol del *mix*. També per l'anàlisi de vitamina C s'han obtingut diferències significatives entre la fruita sola i la del bol del *mix*. Al control microbiològic de les mostres queda patent que la pinya és la més contaminada.

L'estudi de l'evolució de paràmetres fisicoquímics de qualitat de la fruita de IV gamma mostra que existeixen diferències entre les propietats de fruita sola i fruita barrejada. En vista que avui en dia, la societat està cada cop més conscienciada de la importància d'una bona gestió de residus i cuidat del medi ambient, és interessant seguir estudiant l'optimització de la durabilitat dels aliments, que reduiria l'impacte ambiental d'aquest tipus d'indústria.

Resumen

El consumo de fruta mínimamente procesada (IV gama) ha ido en aumento en los últimos años debido al cambio del estilo de vida de los consumidores. Por una parte, cada vez dan más importancia a una alimentación sana y equilibrada y por otra, se dispone de poco tiempo, por lo que se busca lo rápido y cómodo para poder consumir este tipo de alimentos (ya cortados y listos para comer). La fruta, por su origen, es muy fácilmente degradable, lo que hace que pierda vitaminas y que pueda tener una apariencia no idónea para el consumidor (incluso dentro del periodo de vida útil). Los cambios pueden afectar a la calidad, al aspecto (visible para el consumidor) y a la composición.

El objetivo principal de este trabajo es estudiar las características fisicoquímicas de frutas envasadas individualmente y mezcladas, con el fin de analizar si una combinación de éstas podría aumentar su durabilidad. Es decir, el envasado de varias diferentes en el mismo paquete pueda aumentar la vida útil del producto.

Las frutas elegidas para este proyecto han sido el kiwi, el mango, la naranja y la piña. Los criterios de elección han sido: disponibilidad de la fruta en todas las temporadas y tipo de respiración de cada una. Además, son muy populares y atractivas para el consumidor.

Se ha realizado un seguimiento de parámetros fisicoquímicos que habitualmente se utilizan como indicadores de la calidad de la fruta como son: gases en el envase, pérdida de agua, firmeza, azúcares, actividad antirradicalaria (que incluye los análisis Polifenoles Totales, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC), contaminación microbiológica, vitamina C, pH y acidez titulable.

Se han encontrado diferencias significativas entre las frutas solas y en el bol del *mix*. La respiración aumenta al encontrarse las frutas mezcladas. El índice de madurez (calculado mediante los parámetros de acidez titulable y azúcares) indica que el kiwi (tanto sólo como en el *mix*) se degrada a la misma velocidad. El resto de las frutas parecen degradarse más rápidamente envasadas conjuntamente. Las propiedades antirradicalarias, desde un punto de vista global, son mejores en la naranja, mientras que los valores inferiores han sido obtenidos para el mango que, sin embargo, parece experimentar una mejora importante de estas propiedades al encontrarse en el bol del *mix*. También en el análisis de vitamina C se han obtenido diferencias significativas entre las muestras solas y las del *mix*. En el control microbiológico de las muestras queda patente que la piña es la más contaminada.

El estudio de la evolución de parámetros fisicoquímicos de la calidad de fruta de IV gama muestra que existen diferencias entre las propiedades de fruta sola y fruta mezclada. Actualmente, la sociedad está cada vez más concienciada de la importancia de una buena gestión de residuos y cuidado del medioambiente, por lo que es interesante seguir estudiando la optimización de la durabilidad de los alimentos, que reduciría el impacto ambiental de este tipo de industria.

Abstract

The consumption of minimally processed fruit (Ready to eat) has increased in recent years due to a change in consumer's lifestyles. On one hand, more importance is given to a healthy and balanced diet and, on the other, people have little time available, which is the reason why we look for fast and easy ways to consume food (already cut and ready to use). Fruit, by its own origin, is easily degradable. This can lead to the loss of physicochemical properties that may change the appearance, making fruit less attractive to the consumer (even during its shelf life). These changes may affect quality, appearance and composition.

The aim of this study is to analyse the physicochemical parameters of individually packaged and mixed packaged fruits, in order to establish if a combination of them could increase their durability. This means, the packaging of a combination of different fruits in the same bowl can increase the useful life of the product.

Chosen fruits for this study are: kiwifruit, mango, orange and pineapple. The criteria of choice have been: availability of the fruit during all seasons and type of respiration of each one. In addition, they are very popular and attractive to the consumer.

A monitoring of the most typical physicochemical parameters used as indicators of the quality of fruit has been done, such as: gases in the package, water loss, firmness, total soluble solids, antiradical capacity (which includes Total Polyphenols Content, DPPH, ABTS, FRAP and ORAC), microbiological contamination, ascorbic acid (vitamin C), pH and titratable acidity.

Significative differences have been found between fruits by their own and fruits from the mix bowl. Respiration is higher for mixed fruits. The maturity index (calculated using two parameters: total soluble solids and titratable acidity) indicates that kiwi degradation occurs at the same speed, both alone and in the mix bowl. The rest of fruits seem to degrade more quickly when packaged together. Globally, antiradical properties seem to be better in the orange, whereas the lower values have been found for mango fruit. However, mango seems to experience a significant increase of these properties when into the mixed bowl. Also for vitamin C analysis, significant differences have been found between fruit alone and mixed fruit. The microbiological contamination control demonstrates that pineapple is the most contaminated one.

The study of the evolution of physicochemical parameters of quality of Ready to eat fruit shows that there are significant differences between fruit alone and mixed fruit. Nowadays, society is aware of the importance of taking care of the environment and excessive waste generation, so it would be interesting to continue studying the optimization of the durability of food, which would reduce environmental impact of this kind of industry.

Agradecimientos

Debo dar gracias a todos aquellos que me han acompañado durante los últimos meses. Todos vosotros me habéis apoyado desde el primer momento y sin vuestra ayuda no habría sido capaz de llevarlo adelante.

Primero de todo, me gustaría dar gracias a mi tutora María Pilar. Me has guiado en todo momento y has sabido transmitirme tus conocimientos para poder sacar el máximo jugo al proyecto, has escuchado mis dudas y opiniones y me has animado a escribir este proyecto. Tu pasión y dedicación por el trabajo en el laboratorio se transmite fácilmente, y lo pude notar desde el primer momento.

También quiero dar las gracias a Sergi, por darme la oportunidad de utilizar los equipos de su laboratorio. Y a Paula, por la cantidad de horas que ha dedicado a este trabajo, por ayudarme y preocuparse, y por darme muchos consejos a lo largo de estos meses.

A los demás miembros del grupo de antioxidantes del laboratorio, desde el primer día me sentí acogida por todos los miembros del equipo. A ti Carla, que durante la primera semana interrumpías continuamente tu trabajo para ayudarme a ubicarme en el laboratorio, indicándome donde estaban todos los reactivos y material cada vez que te preguntaba. A Clara, que me hacías compañía siempre que podías, me hiciste los días más cortos. A Juliana y Manel, cada vez que iba al despacho me alegrabais el día, siempre sonrientes. A Angélica, me diste muy buenos consejos y me has animado para seguir adelante en todo momento. A Gladys y Gábor, por los buenos momentos vividos en el laboratorio.

A mis amigos de Roma, que me contagiáis vuestra alegría, energía y buen humor a pesar de la distancia que nos separa.

A Martina, por acompañarme a la biblioteca y animarme a terminar.

A mis padres y mi hermana, habéis sido mi soporte en los momentos de mayor estrés, y a pesar de todos habéis sido capaces de aguantarme con buen humor.

A todos vosotros, muchas gracias.

Glosario

1-MCP: 1-metilciclopropeno

AAPH: 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride

ABA: ácido abscísico

ABTS: radical 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

°Brix: grados Brix

DPPH: radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

FRAP: poder antioxidante reductor del hierro

GAE: equivalentes de ácido gálico (*galic acid equivalents*)

ORAC: capacidad de absorbancia de los radicales de oxígeno

PBS: tampón fosfato salino (*pHospHate buffered saline*)

PCA: *Plate Count Agar*

ppm: partes por millón

TA: acidez titulable (*titratable acidity*)

TE: equivalentes de Trolox (*Trolox Equivalents*)

TPC: concentración total de polifenoles (*Total PolyPhenol Content*)

TPTZ: 2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina

Trolox: (±)6-hidroxi-2,5,7,8- ácido tetrametilcroman-2-carboxílico

TSA: Tryptone Soya Agar

TSS: sólidos solubles totales (*Total Soluble Solids*)

Índice

RESUM	I
RESUMEN	II
ABSTRACT	III
AGRADECIMIENTOS	IV
GLOSARIO	V
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Importancia de la fruta en una dieta saludable	5
1.2. Ciclo de vida de la fruta.....	5
1.3. Problemática de la fruta de IV gama	7
1.3.1. Mecanismos microbianos	7
1.3.2. Mecanismos fisiológicos.....	7
1.4. Compuestos responsables de la degradación de la fruta	9
1.5. Antioxidantes en la fruta.....	11
1.5.1. Métodos de cuantificación de la actividad antirradicalaria.....	12
1.6. Métodos de conservación de fruta cortada	13
1.6.1. Atmósfera controlada y/o modificada (MAP).....	13
1.6.2. Recubrimientos comestibles	14
1.6.3. Envases activos	14
1.6.4. Envases inteligentes	14
1.6.5. Tecnologías RFID (<i>Radio Frequency IDentification</i>)	15
1.6.6. Nanotecnología	15
1.7. Pérdida de alimentos	15
1.8. Elección de fruta	16
1.8.1. Kiwi.....	17
1.8.2. Mango.....	18
1.8.3. Naranja	19
1.8.4. Piña	19
2. OBJETIVOS DEL TRABAJO	21
3. METODOLOGÍA	23

3.1.	Gases, pérdida de agua y firmeza	23
3.2.	Preparación de extractos	23
3.2.1.	Ensayos previos	23
3.2.2.	Ensayos definitivos	24
3.3.	Análisis actividad antirradicalaria	24
3.3.1.	Polifenoles Totales.....	24
3.3.2.	DPPH	25
3.3.3.	ABTS	26
3.3.4.	FRAP (<i>Ferric Reducing Ability of Plasma</i>)	26
3.3.5.	ORAC (<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>)	27
3.4.	Análisis microbiológico	28
3.4.1.	Preparación AGAR	28
3.4.2.	Preparación Ringer	28
3.4.3.	Siembra de superficie en masa	28
3.4.4.	Lectura de la placa	29
3.5.	Vitamina C	30
3.5.1.	Extracción	30
3.5.2.	Preparación placa para análisis	31
	Cálculos	31
3.6.	Azúcares, pH y acidez titulable	31
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1.	Gases y pérdida de agua	33
4.2.	Firmeza	37
4.3.	Azúcares, pH y acidez titulable	39
4.3.1.	Índice de madurez	42
4.3.2.	Correlación entre variables pH, TSS y TA	43
4.4.	Actividad antirradicalaria	44
4.4.1.	Diferencia entre métodos	50
4.5.	Vitamina C	51
4.6.	Análisis microbiológico	53
5.	ANÁLISIS DEL IMPACTO AMBIENTAL	56
	CONCLUSIONES	61
6.	ANÁLISIS ECONÓMICO Y PLANIFICACIÓN DEL PROYECTO	63
6.1.	Coste de las muestras	63

6.2. Coste material de laboratorio.....	63
6.3. Coste de los reactivos	66
6.4. Coste de los equipos	67
6.5. Coste del personal.....	68
6.6. Coste total	70
6.7. Planificación del proyecto (diagrama de Gantt).....	70
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXOS	77
Anexo I – Correlaciones TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC	77
Anexo II – Seguimiento de la evolución de la actividad microbacteriana	81

Índice de tablas y figuras

Figura 1. Ciclo de vida de la fruta (Fuente: https://es.slideshare.net/monicaglezglez/frutas-y-hortalizas-6965719).....	6
Figura 2. Producción de CO ₂ en frutos climatéricos y no climatéricos (Fuente: https://www.intagri.com/articulos/poscosecha-comercializacion/frutos-climatericos-y-no-climatericos)	8
Figura 3. Acción de los radicales libres sobre las células. Fuente: adaptación (32).	11
Figura 4. Ejemplo bol mix de las cuatro frutas seleccionadas.	16
Tabla 1. Taxonomía del kiwi (47).....	17
Tabla 2. Taxonomía del mango (52).....	18
Tabla 3. Taxonomía de la naranja (56).....	19
Tabla 4. Taxonomía de la piña (60).	19
Tabla 5. Extracciones para el análisis.	30
Tabla 6. Resultados análisis de pérdida de agua (en gramos) y análisis de gases O ₂ y CO ₂ en porcentaje. Ambos resultados se expresan acompañados de su desviación estándar.	34
Figura 5. Evolución de las concentraciones de O ₂ y CO ₂	36
Tabla 7. Resultados análisis de firmeza en kilogramos, acompañados de su desviación estándar.....	37
Figura 6. Evolución de la firmeza (kg) en las muestras piña y piña mix.	39
Tabla 8. Resultados de los análisis pH (en unidades de pH), Contenido sólidos solubles TSS (en °Brix) y acidez titulable (TA) expresada en %.	40
Los resultados para el análisis de pH mostrados en la	41
Tabla 9. Índice de madurez de la fruta analizada.	42
Tabla 10. Correlación de parámetros en las muestras de kiwi.....	43
Tabla 11. Correlación de parámetros en las muestras de naranja.....	43

Tabla 12. Valores de TPC (Total Polyphenol Content) (mg GAE/g muestra fresca), DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca). Todas las muestras son con una $n=5$; $p<0,05$. Misma letra en la misma columna indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las muestras.....	45
Tabla 13. Valores de TPC (Total Polyphenol Content) (mg GAE/g muestra fresca), DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca). Todas las muestras son con una $n=5$; $p<0,05$. Misma letra en la misma columna indica que no hay diferencias significativas entre las muestras.	46
Tabla 14. Resultados análisis de vitamina C en unidades $\mu\text{mol/g}$ muestra fresca.....	51
Tabla 15. Recuento bacterias aeróbicas y anaeróbicas en unidades UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias/mL de muestra).	53
Tabla 16. Recuento de hongos y levaduras en unidades UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias/mL).....	54
Tabla 17. Pictogramas de seguridad.	58
Tabla 18. Coste de la fruta utilizada para la realización del proyecto.	63
Tabla 19. Coste del material de laboratorio utilizado para la realización del proyecto.....	63
Tabla 20. Coste de los reactivos utilizados durante los análisis.	66
Tabla 21. Salario mínimo bruto anual en función del grupo profesional (BOE 2019)	69
Tabla 22. Coste del personal para la realización del proyecto	69
Tabla 23. Coste total del proyecto.	70
Figura 7. Diagrama de Gantt del proyecto.....	70
Tabla 24. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC del kiwi.	77
Tabla 25. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC del mango.	77
Tabla 26. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC de la naranja.	78
Tabla 27. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC de la piña.....	78
Tabla 28. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC del kiwi del bol mix.	79

Tabla 29. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC del mango del bol del mix.	79
Tabla 30. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC de la naranja del bol del mix.	80
Tabla 31. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC de la piña del bol del mix.	80
Figura 8. Resultados placas kiwi para el tiempo 0h.	81
Figura 9. Resultados placas naranja para el tiempo 0h.	81
Figura 10. Resultados placas piña para el tiempo 0h.	82
Figura 11. Resultados placas kiwi para el tiempo 4h.	82
Figura 12. Resultados placas mango para el tiempo 4h.	83
Figura 13. Resultados placas naranja para el tiempo 4h.	83
Figura 14. Resultados placas piña para el tiempo 4h.	84
Figura 15. Resultados placas mix para el tiempo 4h.	84
Figura 16. Resultados placas kiwi para el tiempo 1 día.	85
Figura 17. Resultados placas mango para el tiempo 1 día.	85
Figura 18. Resultados placas naranja para el tiempo 1 día.	86
Figura 19. Resultados placas kiwi para el tiempo 2 días.	86
Figura 20. Resultados placas mango para el tiempo 2 días.	87
Figura 21. Resultados placas naranja para el tiempo 2 días.	87
Figura 22. Resultados placas kiwi para el tiempo 4 días.	88
Figura 23. Resultados placas mango para el tiempo 4 días.	88
Figura 24. Resultados placas naranja para el tiempo 4 días.	89
Figura 25. Resultados placas piña para el tiempo 4 días.	89

Figura 26. Resultados placas mix para el tiempo 4 días.	90
Figura 27. Resultados placas kiwi para el tiempo 6 días.....	90
Figura 28. Resultados placas naranja para el tiempo 6 días.....	91
Figura 29. Resultados placas piña para el tiempo 6 días.	91
Figura 30. Resultados placas kiwi para el tiempo 0h.	92
Figura 31. Resultados placas naranja para el tiempo 0h.	92
Figura 32. Resultados placas kiwi para el tiempo 4h.	93
Figura 33. Resultados placas naranja para el tiempo 4h.	93
Figura 34. Resultados placas kiwi para el tiempo 2 días.....	94
Figura 35. Resultados placas mango para el tiempo 2 días.....	94
Figura 36. Resultados placas naranja para el tiempo 2 días.....	95
Figura 37. Resultados placas naranja 4 y 6 días.....	95

1. Introducción

El consumo de frutas y verduras mínimamente procesadas (IV gama) ha ido en aumento en los últimos años, debido a un cambio en el estilo de vida de los ciudadanos, que cada vez cuidan más la alimentación y prefieren este tipo de producto más saludable para su día a día, además de encontrar muy práctico poder comprar fruta ya lista para comer (1).

A su vez, los consumidores se han vuelto también más reacios al uso de aditivos sintéticos para preservar la fruta y conservar características como color y sabor. Así pues, esta industria debe enfrentarse al reto de reemplazar los métodos tradicionales de conservación por otros, especialmente variando atmósferas, envases y composición inicial, que permitan conservar las cualidades nutritivas y sensoriales del alimento (2).

1.1. Importancia de la fruta en una dieta saludable

Está ampliamente reconocido y aceptado por la sociedad que una dieta saludable es uno de los factores que más afectan a la salud desde una edad temprana, siendo el consumo diario de fruta y verdura clave en una dieta sana, debido a la alta aportación de vitaminas, minerales, micronutrientes esenciales, fibra y proteínas vegetales que proporcionan y que son cruciales para el cuerpo humano. En concreto, unos hábitos saludables de alimentación pueden disminuir el riesgo de enfermedades como el cáncer, diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, sobrepeso y obesidad (3).

Sin embargo, a pesar de este reconocimiento, el consumo de fruta y verdura *per capita* se estima está un 20-50 % por debajo de mínimo recomendado por la FAO. Este déficit tiene consecuencias graves para la salud humana ya que el bajo consumo de fruta y verdura se encuentra en el ranking de los diez factores de riesgo que, a nivel global, causan mayor mortalidad y afectan gravemente a la salud (4).

1.2. Ciclo de vida de la fruta

El ciclo de vida de la fruta se desarrolla en tres fases, que son el crecimiento, la maduración y la senescencia (5). Estas etapas pueden identificarse en la Figura 1.

La primera es la etapa de crecimiento. En esta primera fase se produce la expansión del fruto debido al incremento del volumen celular, asociado directamente con el aumento del contenido de agua en las células (también llamado expansión celular).

Después del crecimiento se produce la maduración. Está caracterizada por cambios en la composición, textura y otras cualidades sensoriales. Ocurre cuando se ha dado la formación completa del organismo, es decir, el momento en que sus células contienen suficientes elementos bioquímicos para funcionar correctamente. Existen diferentes conceptos de madurez según el punto de vista. Desde un punto de vista científico, la madurez es considerada madurez fisiológica, y se refiere a la etapa del desarrollo de la fruta en que se ha producido el máximo crecimiento y desarrollo. El producto se encuentra totalmente desarrollado y consiste en una combinación de cambios bioquímicos y fisiológicos que influyen en la apariencia, textura, sabor y aroma. Desde un punto de vista comercial, la madurez es llamada madurez comercial, y es el grado en el cual el producto es comúnmente comercializado, ya que satisface las necesidades del consumidor y cumple con los atributos requeridos, dando lugar a una fruta apta para el consumo.

La etapa final del ciclo de vida de la fruta es la senescencia (también llamada sobremaduración o *over-ripening*), que es la etapa de envejecimiento celular. Se trata de un fenómeno degenerativo caracterizado por la pérdida del contenido celular, oscurecimiento de los tejidos debido a la oxidación, pérdida de turgencia y aparición de pudriciones debido a la presencia de hongos y levaduras, lo que conlleva una disminución de la turgencia y textura crujiente. A partir de este momento, la fruta envejece y experimenta una serie de cambios que le hacen perder sus características deseables para el consumo, llegando irreversiblemente a la muerte de los tejidos (6). En la fruta cortada, este fenómeno se debe a la ausencia de cutícula y capas subepidérmicas y, por lo tanto, a la exposición del tejido interno a la atmósfera (7).

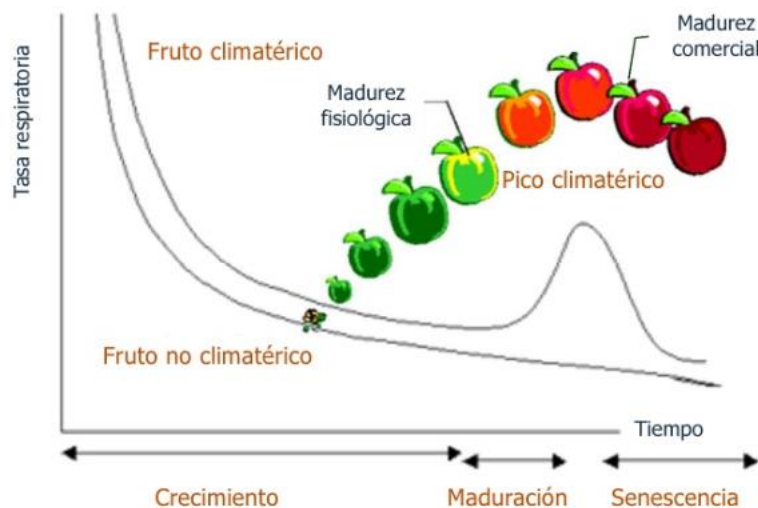


Figura 1. Ciclo de vida de la fruta (Fuente: <https://es.slideshare.net/monicaqlezglez/frutas-y-hortalizas-6965719>)

1.3. Problemática de la fruta de IV gama

Los productos de IV gama son muy sensibles al deterioro debido a los procesos que se utilizan para prepararlos, como pelar y cortar. Al ser recolectadas, las frutas quedan separadas de su fuente natural de nutrientes, pero sus tejidos todavía respiran y desarrollan actividades metabólicas, cuya energía se obtiene de la oxidación de azúcares y otros sustratos, como los ácidos orgánicos, con formación de CO_2 y de agua.

Los principales mecanismos de degradación de la fruta de IV gama pueden ser tanto microbianos como fisiológicos (respiración, producción de etileno, oscurecimiento enzimático) (8).

1.3.1. Mecanismos microbianos

Los mecanismos de deterioro de la fruta debido a microorganismos pueden ser provocados tanto por hongos y levaduras como por bacterias (aeróbicas o anaeróbicas). Éstos son intrínsecos a la fruta, y pueden afectar directamente a los parámetros de calidad de los alimentos. Unas buenas prácticas de tratamiento de la fruta disminuirán la contaminación inicial y, consecuentemente, el incremento de la contaminación posterior.

1.3.2. Mecanismos fisiológicos

1.3.2.1. Respiración

La respiración es un proceso metabólico que proporciona a la planta la energía necesaria para llevar a cabo procesos bioquímicos (9). Ésta consiste en la descomposición de reservas orgánicas, como carbohidratos, lípidos y ácidos orgánicos, en moléculas más simples, como CO_2 y agua, con liberación de energía. Se trata de un proceso que consume O_2 a través de una serie de reacciones enzimáticas. La respiración puede expresarse como cantidad de CO_2 producida o bien como cantidad de O_2 consumido (10). Todos los frutos desprenden etileno durante la respiración, pero existen diferentes patrones que dan lugar a la siguiente clasificación (ver Figura 2):

- Los frutos climatéricos son aquellos en los que, previamente a la maduración o durante la misma, presentan un pico de producción autocatalítica de etileno (conocido como hormona de envejecimiento de las plantas), lo que provoca un aumento de la tasa de respiración (se produce más CO_2) y conduce irreversiblemente a la maduración. La aplicación exógena de etileno acelera la maduración de este tipo de fruta, ya que el etileno producido por cada fruta se acumula y estimula a los demás frutos a madurar más rápidamente y, en consecuencia, a generar más etileno (11). Además, éstas siguen madurando incluso una vez han sido

recolectadas o cortadas, ya que aumentan su tasa de respiración a pesar de no encontrarse en la planta.

- Los frutos no-climatéricos son aquellos que no presentan aumento de la respiración ni un pico en la producción de etileno. Los cambios en la composición química son graduales, y no van acompañados por aumentos de la respiración o por una intensa producción de etileno. La aplicación exógena de etileno no altera su maduración ni induce a la producción endógena de etileno (ya que el mecanismo de liberación de etileno en este caso no es un autocatalítico), pero sí produce un aumento de la actividad respiratoria, es decir, aumenta la producción de CO_2 y el consumo de O_2 (12). Por este motivo, estas frutas son recolectadas cuando ya están prácticamente en el punto de madurez comercial (no maduran al ser arrancadas del árbol).

Cuando una fruta madura desprende etileno, acelera la maduración de otras frutas sensibles a él que se encuentren a su alrededor, provocando que se descompongan mucho más rápido de lo normal: sabor amargo en las zanahorias, aumento de rugosidad de las hojas de los espárragos, manchas rojizas en la lechuga, pérdida del color en el brócoli o reblandecimiento de los tomates maduros.

Existen diversos factores que pueden afectar a la tasa de respiración de la fruta, como son la temperatura, la luz, la humedad y la exposición de los tejidos a la atmósfera.

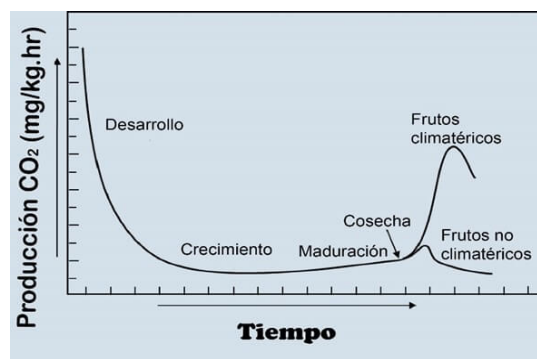


Figura 2. Producción de CO_2 en frutos climatéricos y no climatéricos (Fuente: <https://www.intagri.com/articulos/poscosecha-comercializacion/frutos-climatericos-y-no-climatericos>)

Por tanto, para conservar fruta cortada mezclada, es ideal poner frutos climatéricos (pocos) con no climatéricos, de tal forma que se produzca poco etileno y no se deterioren tan rápidamente los frutos climatéricos.

1.3.2.2. Pérdida de agua

La pérdida de agua (*water loss*) es la primera fase de degradación de la fruta. Este fenómeno, también llamado transpiración o pérdida de peso de la fruta, es el responsable de la pérdida de firmeza y

turgencia de la fruta cortada debido a la exposición de las partes internas al aire. En consecuencia, afecta a la calidad de la fruta cortada, disminuyendo su apariencia y elasticidad (13).

1.3.2.3. Pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático (*enzymatic browning*) se desencadena al realizar un corte en la fruta, momento en que se pierde la integridad celular en su superficie. Esto provoca una destrucción de la compartimentación de enzimas y sustratos, con lo que se catalizan las reacciones y se produce la formación de metabolitos secundarios no deseados (14). Se altera la calidad de la fruta, dando lugar a sabores y olores indeseados, cambios en la textura, color y el valor nutritivo. La enzima clave del pardeamiento enzimático es la polifenol-oxidasa. Esta enzima cataliza la oxidación de monofenoles a o-difenoles, y la oxidación de o-difenoles a o-quinonas. Estas o-quinonas condensan y reaccionan “nanoenzimáticamente” con aminoácidos y proteínas, lo que produce pigmentos marrones de melanina. Otra familia importante de enzimas oxidativas son las peroxidasas. Éstas pueden también contribuir al pardeamiento enzimático, oxidando donantes de electrones en presencia de peróxido de hidrógeno (15).

1.4. Compuestos responsables de la degradación de la fruta

Existen compuestos que participan en la degradación de la fruta cortada. El más significativo de ellos es el etileno, como ya se ha comentado. Este gas de origen natural, considerado la “hormona de envejecimiento de las plantas” es el responsable de la maduración de frutas y verduras, provocando que éstas cambien de color, obtengan una textura más blanda y desarrollen su sabor y aroma característicos. El etileno tiene un papel importante en todos estos mecanismos, ya que acelera el metabolismo activando las enzimas oxidativas e hidrolíticas e inactivando los inhibidores de estas enzimas. Es preciso evitar la acumulación de esta hormona vegetal gaseosa mediante ventilación, a fin de prorrogar la conservación de las frutas (16).

Si este compuesto, producido por una fruta madura, se acumula en las cercanías de frutas todavía no maduras, desencadena rápidamente el conjunto de reacciones asociadas a la maduración (17).

Hay frutas y verduras que presentan picos de producción de gas etileno, climatéricas, y otros alimentos que son muy sensibles a él. Por ejemplo, entre las frutas productoras de etileno destacan la manzana, el mango, el melón, el plátano, el aguacate, las ciruelas, las uvas, los tomates o las cebollas. Como alimentos sensibles al etileno, destacan el brócoli, la lechuga, los espárragos, las patatas o las zanahorias (18). Por esta razón, una mezcla de frutas se estropea más rápidamente al estar juntas que si están separadas. Por ejemplo, un kiwi se estropeará antes al estar cerca de una manzana que estando solo.

Otro compuesto que participa de la oxidación de las frutas es el ácido jasmónico. Éste actúa como regulador del crecimiento, altera en forma específica la expresión génica para resistencia a patógenos y genes que codifican para proteínas de reserva, es decir, la producción de jasmonato en la fruta aumenta al estar expuesta a algún tipo de estrés, como puede ser cortarla o pelarla.

El ácido abscísico (ABA), conocido anteriormente como dormina o abscisina, es un inhibidor del crecimiento natural presente en plantas. Sirve para restringir su crecimiento o capacidad reproductora en épocas desfavorables. Inhibe el crecimiento celular y la fotosíntesis (19).

Otro compuesto es el ácido salicílico, que pertenece al grupo de los fenoles y deriva de la conversión del ácido cinámico. Se encuentra en todas las plantas, en mayores concentraciones en las termogénicas (capaces de generar energía de manera que alcanzan el equilibrio térmico) y en aquellas infectadas con patógenos, e induce la floración (20).

El 1-metilciclopropeno (1-MCP) actúa como inhibidor de la acción del etileno. Por eso se usa a menudo para la conservación de la fruta cortada en atmósferas controladas.

Los compuestos fenólicos (fenoles) son muy susceptibles a la oxidación, por lo tanto, tienen un carácter marcadamente antioxidante, ya que experimentan la oxidación antes que otras especies susceptibles de ser oxidadas y en consecuencia las protegen frente a esos ataques oxidantes (21).

Las antocianinas, cuyas funciones en las plantas son múltiples (desde la de protección de la radiación ultravioleta, la de atracción de insectos polinizadores, hasta impedir la congelación de las frutas) están muy presentes en algunos vegetales, como, por ejemplo, las uvas (22).

Otro compuesto importante es la vitamina C (ácido ascórbico). Este compuesto es importante para el consumo ya que nuestro organismo es incapaz de sintetizarlo. Alrededor del 90% de vitamina C en la dieta humana proviene del consumo de fruta, aunque la cantidad de cada una depende de muchos factores como, por ejemplo, el tipo de procesado que se ha aplicado a la fruta o el clima (23). El ácido ascórbico es también un compuesto que puede utilizarse como indicador de la degradación de la fruta durante su conservación mediante la monitorización de su contenido. Según estudios realizados anteriormente, la cantidad de vitamina C en fruta mínimamente procesada disminuye notablemente al ser cortada y tratada para el consumo (24).

Los azúcares presentes en la fruta aumentan a medida que aumenta el tiempo de almacenado (25). Sin embargo, generalmente en los frutos no climatéricos el contenido de azúcares a lo largo de los días es menos variable que en frutos climatéricos (26). Según bibliografía consultada, el contenido de Sólido Totales Solubles o *Total Soluble Solids* (TSS) presenta entre 80 a 95% de azúcares, por lo que para este estudio se considera la medida de TSS como una medida del contenido de azúcares en la fruta. Los

demás compuestos que forman los TSS son los ácidos orgánicos. Es evidente que una pérdida de peso debida a la pérdida de agua, conlleva a un aumento de la concentración de azúcares en la fruta (27).

Algunos autores utilizan como medida para la maduración de la fruta la relación entre azúcares (TSS) y acidez titulable (TA), llamado índice de madurez. Generalmente, los azúcares aumentan mientras la acidez titulable disminuye a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento. En frutos climatéricos este aumento y disminución es menos pronunciado (28).

1.5. Antioxidantes en la fruta

Un radical libre es una especie química cuya estructura contiene electrones desapareados, lo que la convierte en altamente inestable, capaz de crear reacciones en cadena. Los radicales libres, con tal de estabilizarse, ceden o cogen electrones de estructuras moleculares adyacentes, pudiendo transformarlas también en radicales libres. Hay evidencias de que los radicales libres causan daños a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Además, pueden afectar a las reacciones que tienen lugar en el organismo, como la transcripción genética (afectando al ADN) o la actividad de ciertas enzimas, por lo que pueden ser perjudiciales para la salud.

Los antioxidantes son sustancias que, en concentraciones bajas, pueden retrasar o evitar la oxidación de un sustrato, es decir, son sustancias que inhiben la oxidación de los radicales libres (29). Si una molécula pierde un electrón y se transforma en radical libre, la molécula antioxidante “da” un electrón al radical, neutralizándolo (30). Los efectos saludables derivados del consumo de fruta y verdura están estrechamente relacionados con la cantidad de antioxidantes presentes en ella debido la capacidad de inhibir la actividad de los radicales libres en nuestro organismo.

Los radicales libres de oxígeno forman parte de reacciones metabólicas de nuestro organismo, pero si se producen en exceso, los radicales libres pueden reaccionar con los compuestos celulares produciendo la aparición de enfermedades (31).



Figura 3. Acción de los radicales libres sobre las células. Fuente: adaptación (32).

1.5.1. Métodos de cuantificación de la actividad antirradicalaria

Existen diversos métodos de cuantificación de la actividad antirradicalaria.

El contenido total de polifenoles o *Total Polyphenol Content* (TPC) puede ser determinado por espectrofotometría mediante el método Folin-Ciocalteu. La reacción química está basada en la transferencia de electrones de compuestos fenólicos y la medida de la absorbancia de los complejos de coloración azul a longitud de onda de 725 nm. El ácido gálico es utilizado como estándar, y los resultados son expresados en equivalentes de ácido gálico o *Gallic Acid Equivalents* (GAE) por gramo de masa de la muestra o extracto.

La desventaja de este método es que no es específico, ya que el reactivo puede ser reducido por otros componentes además de los fenólicos.

Los métodos de cuantificación de capacidad antirradicalaria pueden ser divididos en dos categorías: basados en transferencia del átomo de hidrógeno o *Hydrogen Atom Transfer* (HAT) y basados en transferencia de un solo electrón o *Single Electron Transfer* (SET).

El primer tipo, comúnmente encontrado en solventes no ionizantes, consiste en la transferencia de un átomo de hidrógeno de la sustancia que actúa como antioxidante a aquella libre de radicales. Los métodos tipo HAT están compuestos generalmente por un generador sintético de radicales, una sonda molecular oxidable y un antioxidante. El método *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC) está incluido en esta categoría.

La segunda categoría (SET) detecta la habilidad de un potencial antioxidante de transferir un electrón para reducir algún compuesto, incluidos metales, carbonilos y radicales. Se trata de una reacción redox con el antioxidante (también como sonda para monitorizar la reacción) como indicador del final de la reacción. Algunos ensayos incluidos en esta categoría son 2,20-azinobis-(3-ethilenebenzotiazolin)-6-sulfonic acid (ABTS), Ferric Ion Reducing Antioxidant Power (FRAP) y TPC cuando se utiliza el reactivo Folin-Ciocalteu.

Ambas reacciones (SET y HAT) pueden ocurrir a la vez y el mecanismo finalmente dominante es determinado por las características del antioxidante. El ensayo 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) está incluido en las dos categorías.

Cada método de actividad antirradicalaria está basado en un cambio colorimétrico o de fluorescencia debido a la eliminación de los radicales añadido a la solución. En los métodos DPPH, ABTS y FRAP, se mide un cambio colorimétrico a una cierta longitud de onda. En ORAC, los compuestos antioxidantes de la muestra inhiben la fluorescencia debido a la reacción de la fluoresceína con radicales peroxilo.

Los resultados de estos ensayos son expresados en mg GAE/g en el análisis de TPC. Para el resto de los análisis (DPPH, ABTS, FRAP y ORAC) se utilizan los equivalentes de Trolox o *Trolox equivalents* (TE) por gramo de muestra. El Trolox es una vitamina E soluble en agua que a menudo se utiliza como estándar (33).

1.6. Métodos de conservación de fruta cortada

Las tecnologías emergentes en materia de envasado de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (IV gama) se han convertido en el centro de atención de gran parte de la industria alimentaria. Además de las técnicas clásicas relacionadas con la refrigeración de los productos o su tratamiento en atmósferas controladas y atmósferas modificadas que están dando muy buenos resultados, existen actualmente diferentes tendencias, prometedoras, como la aplicación de recubrimientos comestibles con compuestos bioactivos (como aditivos), el uso de envases activos e inteligentes, radiación UV, nuevas generaciones de recubrimientos que usan nanotecnología, tratamientos con atmósferas no convencionales como el uso de inertes/gases nobles presurizados con altos niveles de O₂ y tratamientos a altas presiones, entre otros (34).

El futuro del *packaging* de fruta cortada consiste en el crecimiento del uso de sistemas inteligentes que incluyan tanto materiales convencionales como inteligentes, añadiendo valor y beneficio a lo largo de la cadena de suministro. Los materiales inteligentes que deben ser adoptados en el sector, deben ser económicos en relación con el valor del producto, fiables, exactos, reproducibles en el rango de operación, medioambientalmente sostenibles y seguros al contacto con los alimentos. Los materiales que suelen usarse para el *packaging* son poliméricos.

Una vez ha sido evaluada la respiración de la fruta, el *packaging* óptimo puede ser diseñado en base a la permeabilidad. Ésta, puede ser determinada por el propio material, pero puede ser alterado usando orientación, estructuras porosas o microperforaciones (35).

1.6.1. Atmósfera controlada y/o modificada (MAP)

El uso de atmósferas controladas (*Modified Atmosphere Packaging*) consiste en mantener niveles bajos de O₂ y altos de CO₂ con baños antioxidantes para evitar la oxidación de la fruta. Esta estrategia no suele ser suficiente para asegurar la seguridad y vida útil de la fruta por tiempo suficiente para sobrevivir a la misma cadena de suministro, con lo cual suele ser usada en combinación con otras tecnologías (36).

1.6.2. Recubrimientos comestibles

La industria ha estado en los últimos años muy centrada en envases biodegradables, pero la innovación en recubrimientos es también muy prometedora. Se trata de finas películas transparentes comestibles que envuelven el alimento y se obtienen a partir de productos de origen natural como carbohidratos, lípidos, proteínas y resinas. Estos protegen el alimento actuando como barrera física que lo previene de daños mecánicos, además de reducir la transferencia de gases, aromas y lípidos entre el alimento y el ambiente donde se encuentra. Es decir, crean una atmósfera modificada a su alrededor (37). Este método logra ralentizar el deterioro y senescencia de la fruta, proporcionándole una mayor vida útil. Se pueden incorporar sustancias antimicrobianas que lo protejan de este tipo de deterioro. Para que los recubrimientos sean efectivos deben ser transparentes, estar exentos de sabores y olores extraños y de sustancias nocivas para la salud, deben ser estables a diversas condiciones de almacenamiento y ser extensibles para que el alimento quede recubierto de manera homogénea; evidentemente, además deben tener un bajo coste (38).

1.6.3. Envases activos

Los envases activos están diseñados para interactuar de forma activa y continua con su contenido. Esta interacción implica siempre una transferencia de masa, ya sea para incorporar sustancias al contenido del envase (el alimento y su entorno) o absorber componentes de éste. La finalidad de esta interacción es ampliar el tiempo de conservación, mantener o mejorar el estado de los alimentos, y por tanto es una interesante opción para el envasado de fruta cortada. Los materiales activos modifican determinadas condiciones o procesos del alimento que juegan un papel determinante en la vida comercial del producto, por ejemplo, procesos químicos, físicos o microbiológicos. Estas condiciones pueden ser reguladas mediante la aplicación de los sistemas activos apropiados consiguiendo así un aumento de la vida comercial del producto. Los envases activos incluyen sistemas que absorben, eliminan o regulan compuestos como el oxígeno, radicales, etileno, humedad o aquellos que pueden ocasionar olores o sabores desagradables en los alimentos. Otros sistemas liberan sustancias químicas como conservantes, antioxidantes, colorantes o aromas (39).

1.6.4. Envases inteligentes

Se trata de envases que incorporan algún sistema que monitoriza y comunica información útil de las propiedades y/o estado del alimento envasado. Algunos de estos sistemas de envasado inteligente pueden detectar el crecimiento de patógenos en el interior del envase (*Food Sentinel System*). La detección del patógeno, mediante un anticuerpo específico del microorganismo, provocaría la aparición de otra línea en el código de barras y con ello sería imposible la lectura de éste en la caja, por lo que no se podría vender. Otros envases detectan la presencia de fugas (*Ageless Eye*) de forma que un “chivato” advierte al consumidor con un cambio de color cuando el porcentaje atmosférico de

oxígeno es inferior a un nivel crítico. Otros sistemas advierten de cambios en Tiempo-Temperatura (por ejemplo, *Onvu*, *TT Sensor TM* y *Checkpoint*). Estos sensores están programados para cambiar de color de forma irreversible según el tiempo y la temperatura a la que ha estado sometido el producto. El cambio de color en la etiqueta marca si el producto es apto para el consumo o no (40).

1.6.5. Tecnologías RFID (*Radio Frequency IDentification*)

El funcionamiento de esta tecnología se basa en la señal de radio que genera la etiqueta RFID, en la que previamente se han grabado los datos identificativos del objeto al que está adherida. Un lector físico se encarga de recibir esta señal, transformarla en datos y transmitir dicha información a la aplicación informática específica que gestiona RFID. Las etiquetas actualmente tienen precios muy bajos y dimensiones de hasta 0,4 mm², por lo que están preparadas para su integración en todo tipo de objetos. A pesar de estar incluidas en el marco legal europeo, la realidad es que la industria alimentaria europea está utilizando muy tímidamente esta tecnología, probablemente por las dudas que se puedan plantear en cuanto a la aceptación de estos sistemas por los consumidores (41).

1.6.6. Nanotecnología

La nanotecnología puede ser un gran aliado, en el futuro, para los envases de fruta mínimamente procesada. Esta ciencia trabaja a escala nanométrica y su interés radica en que el pequeño tamaño de las partículas conlleva propiedades físicas y químicas que difieren significativamente de las habituales a mayor escala. Ya existen en el mercado materiales con nanocompuestos para el envasado, que mejoran sus propiedades. Una de sus ventajas es producir envases activos con menores contenidos de polímero (disminución del peso del envase y, por tanto, del coste final), y que mantengan sus propiedades (barrera a los gases y a la luz, propiedades mecánicas o capacidad antimicrobiana) e incluso las mejoran. En el mercado, los primeros polímeros nanocompuestos que han aparecido como materiales mejorados para el envasado de alimentos son los polímeros que incorporan nanopartículas de arcilla (42) (43).

1.7. Pérdida de alimentos

El problema de la pérdida o desperdicio de alimentos es de gran importancia para combatir el hambre y aumentar la seguridad de la comida en los países más pobres. Las pérdidas de comida tienen un impacto importante en la calidad y seguridad de la comida, en el desarrollo económico y en el medio ambiente. Las causas exactas de la pérdida de alimentos son diversas a lo largo del planeta, y dependen mucho de las condiciones específicas de cada país. En términos generales, el desperdicio de alimentos está influenciado por el tipo de cultivo, estructura interna y capacidad, canales de distribución, tipo de

consumidor y el tipo de uso que se le da al alimento. Independientemente del nivel de desarrollo económico del país, el desperdicio de alimentos debería mantenerse siempre al mínimo.

Las pérdidas de alimentos representan un desperdicio de recursos utilizados para su producción, como tierra, agua, energía y otros *inputs*. La producción de comida que no va a ser consumida conlleva emisiones innecesarias de CO₂, además de enormes pérdidas económicas (44).

Según la *Food and Agriculture Organisation of the United Nations* (FAO), un tercio de la comida producida en el mundo para consumo humano es desechada cada año. Además, de todos los alimentos que se producen, aquellos con un mayor porcentaje de pérdidas son frutas, verduras, tubérculos y raíces, llegando a producirse pérdidas hasta del 50 % debido a su carácter perecedero (45). Las pérdidas ocurren también durante la vida útil del producto, por lo que la reducción de estas enormes pérdidas de fruta requiere adopción de medidas durante la cosecha, la manipulación, el almacenamiento, el envasado y el procesamiento de frutas frescas para obtener productos con mejores propiedades de almacenamiento (46).

1.8. Elección de fruta

Este proyecto se ha centrado en el estudio de cuatro frutas: kiwi, mango, naranja y piña. La elección de estas frutas se debe a que todas ellas están disponibles en todas las temporadas. Además, la combinación de éstas podría dar lugar a un aumento del tiempo de conservación de éstas debido a sus características, ya que se ha intentado hacer una mezcla de pocos frutos climatéricos (mango) con varios no climatéricos (kiwi, naranja y piña) de manera que la presencia del mango no afecte en exceso al resto de frutos, ya que tal como se ha explicado en apartados anteriores, los frutos climatéricos desprenden etileno, y esto puede afectar a la maduración de las frutas adyacentes. En la Figura 4 se presenta un ejemplo del bol *mix* creado para el proyecto.



Figura 4. Ejemplo bol mix de las cuatro frutas seleccionadas.

1.8.1. Kiwi

La planta del kiwi (*Actinidia deliciosa*) es una enredadera del origen chino, pero a pesar de eso, los chinos nunca la cultivaron, sino que fueron los neozelandeses. Es un fruto exótico cuyos principales productores actualmente son Nueva Zelanda, China, Italia y Chile. Crece en regiones de clima cálido subtropical, aunque aguanta bien las heladas.

Tabla 1. Taxonomía del kiwi (47).

TAXONOMÍA	
Reino	Plantae
Clase	Mangoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Actinidiaceae
Género	Actinidia
Especie	Actinidia deliciosa

Existen diversas variedades de kiwi, aunque la más extendida y comúnmente comercializada es el kiwi verde, que es el que se ha utilizado a lo largo del proyecto. El tamaño del fruto está condicionado al número de semillas, que suele encontrarse alrededor de las 1000 para alcanzar el peso medio de 100 g. Tiene un sabor acidulado y la capacidad de "frigoconservación" más alta de todos los kiwis. Se trata de una fruta cuyo componente mayoritario es el agua, llegando a representar más de un 80 % de su peso, con un aporte calórico muy bajo. Está reconocido por su alto contenido en vitaminas, destacando la vitamina C, de la que puede llegar a tener más incluso que la naranja, y la vitamina E, ambas con propiedades antioxidantes. También es una fuente importante de vitaminas del grupo B, principalmente el ácido fólico (vitamina B9). Posee también altos contenidos en minerales como potasio, fósforo, magnesio y calcio.

Se trata de uno de los alimentos más recomendados debido a la gran cantidad de beneficios nutricionales que aporta, siendo una de las frutas nutritivamente más completas. Una de sus propiedades más valoradas es la cantidad de fibra que contiene, ayudando a mejorar el tránsito intestinal.

Al tener grandes cantidades de vitamina C, un solo fruto cubre las necesidades diarias de esta vitamina. Además, su alto contenido en vitamina E y ácido fólico refuerza el sistema inmunitario, reduciendo los síntomas de enfermedades infecciosas como las gripe o el resfriado. Su consumo está muy aconsejado durante el embarazo para prevenir malformaciones del feto, debido a sus altos contenidos de ácido fólico. El kiwi es además una fuente importante de antioxidantes, ya que además de vitaminas C y E, contiene luteína, un carotenoide que nuestro cuerpo es incapaz de sintetizar (48) (49).

Se trata de un fruto no-climatérico, es decir, no presenta un aumento de su tasa de respiración durante la maduración (50).

1.8.2. Mango

El mango (*Mangifera indica*) es una fruta tropical muy popular y nutritiva. Originario de la India donde ha sido cultivado durante más de 4000 años, crece en el árbol que lleva el mismo nombre. La producción de mango crece cada año, siendo actualmente los mayores productores India, Pakistán, Indonesia, Méjico, Brasil y Filipinas (51).

Tabla 2. Taxonomía del mango (52).

TAXONOMÍA	
Reino	Plantae
Clase	Mangoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	Anacardiaceae
Género	Mangifera
Especie	Mangifera indica

El mango es conocido como “el rey de la fruta” por ser la fruta más popular en países tropicales. Existen cientos de variedades diferentes, cada una con un sabor característico, forma y sabor. A pesar de que existan diferencias en las composiciones de las distintas variedades, todas ellas tienen en común un alto contenido en agua, un contenido relativamente elevado en calorías (si se compara con otras frutas como, por ejemplo, el kiwi, donde el aporte calórico es muy inferior) debido a su alto contenido en hidratos de carbono, y es una fuente importante de polifenoles, carotenoides, potasio, magnesio, fibra y vitaminas (sobre todo vitamina E, aunque contiene también, en menor cantidad, vitaminas B y C) (53).

Debido a su composición el mango tiene propiedades muy beneficiosas para las personas: la vitamina C interviene en la formación de colágeno y glóbulos rojos, además de favorecer la absorción del hierro de otros alimentos y aumentar la resistencia a infecciones. Contiene además vitamina E, teniendo pues unas características antioxidantes importantes. Ambas vitaminas cumplen una función antioxidante. El potasio es un mineral imprescindible para la transmisión y generación del impulso nervioso y para la actividad muscular normal, por lo que se recomienda a personas que padecen insuficiencia renal o que requieran dietas controladas en este mineral. El magnesio está relacionado con el funcionamiento de intestino, nervios y músculos, y mejora la inmunidad. Su contenido en fibra ayuda a mejorar el tránsito intestinal (54).

Se trata de un fruto climatérico que, por tanto, tal como se ha explicado en el apartado 1.3.2.1, desprende etileno aun después de ser arrancado del árbol. Este etileno puede afectar a la maduración de otros frutos que sean sensibles a él, por ejemplo, el kiwi.

1.8.3. Naranja

La naranja es una fruta de origen chino, aunque en la actualidad los principales productores son Brasil, Estados Unidos, España, Italia, México, India, Israel, Argentina y la propia China (55).

Tabla 3. Taxonomía de la naranja (56).

TAXONOMÍA	
Reino	Plantae
Clase	Mangoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	Rutaceae
Género	Mangifera
Especie	Citrus x sinensis

La naranja destaca por ser una fruta muy rica en vitamina C y tener un elevado contenido de agua, además de tener un alto contenido de fibra, minerales, calcio, ácido fólico, ácido cítrico y antioxidantes (57). La vitamina C interviene en la formación de colágeno y glóbulos rojos. El consumo de una naranja cubre prácticamente el 100% de la cantidad recomendada de vitamina C. El ácido fólico interviene en la producción de glóbulos rojos y blancos, y en la formación de anticuerpos del sistema inmunológico. Además, es imprescindible para los procesos de multiplicación y división celular, además de ayudar a la absorción de hierro de otros alimentos. La naranja aporta contenidos elevados de fibra. Ésta se encuentra sobre todo en la pulpa blanca debajo de su piel, por lo que al consumir en zumo muchas veces se desecha una gran parte. La naranja tiene también propiedades diuréticas, debido a su contenido elevado en agua, potasio y ácido cítrico (58).

1.8.4. Piña

La piña (*ananas comosus*) es una fruta de origen tropical que lleva cultivándose miles de años, aunque su origen exacto es desconocido. El principal productor es Tailandia, seguido de Filipinas y Brasil (59).

Tabla 4. Taxonomía de la piña (60).

TAXONOMÍA	
Reino	Plantae
Clase	Liliopsida
Orden	Poales
Familia	Bromeliaceae
Género	Ananas

Especie	Ananas comosus
----------------	----------------

Se trata de una fruta con alto contenido en agua. Aporta una gran cantidad de hidratos de carbono y bromelina, una enzima que ayuda a la digestión de las proteínas (61). A pesar de tener un sabor muy dulce, su aporte calórico es moderado. Destacan, respecto a otros nutrientes, su contenido en potasio, yodo y vitamina C. El potasio es necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso, y para la actividad muscular normal (62). El yodo es imprescindible para regular el metabolismo. La vitamina C favorece la formación de colágeno y glóbulos rojos, además de favorecer la absorción de hierro de los otros alimentos y aumentar la resistencia a infecciones, además de poseer una acción antioxidante muy elevada. Además, tiene un alto contenido en fibra, por lo que regula en tránsito intestinal (63).

Se trata de un fruto no climatérico poco sensible al etileno (64), por lo que la presencia de frutos climatéricos a su alrededor no afecta gravemente a la "sobremaduración" de ésta.

2. Objetivos del trabajo

El objetivo principal de este trabajo es analizar la evolución de las propiedades de la fruta cortada, envasada aislada combinada y ver cómo afecta a sus características, la durabilidad de la fruta envasada y cortada (*Ready to eat*), y en consecuencia su vida útil.

Para lograrlo se puede desglosar el objetivo principal en otros más específicos:

1. Búsqueda bibliográfica para analizar el estado actual del arte
2. Elección de las frutas, siguiendo criterios como disponibilidad durante todas las temporadas y el tipo de respiración de la fruta.
3. Determinar que parámetros se utilizan y los tiempos de muestreo que sirven como indicadores de la aceptabilidad de la fruta cortada.
4. Analizar en el tiempo de conservación de las frutas en refrigeración (mezcladas y envasadas aisladas) la actividad antioxidante y antirradicalaria (Polifenoles Totales, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC).
5. Estudiar la evolución en el tiempo de los parámetros que influyen en la calidad sensorial de la fruta: gases presentes en el envase, pérdida de agua, firmeza y azúcares.
6. Determinar en el tiempo de envasado de la fruta, la contaminación microbiana, vitamina C, pH y acidez titulable, como parámetros que afectan a la durabilidad.

3. Metodología

3.1. Gases, pérdida de agua y firmeza

El primer análisis realizado a la fruta es el análisis de gases en el interior del envase. Para realizarlo, se utiliza un medidor de gases OXYBABY, se pincha el envase con la punta y se espera hasta que aparezca la composición del gas en el interior del bol.

Para medir la pérdida de agua, se debe pesar el bol en el momento de preparación de éste (tiempo 0). Una vez transcurrido el tiempo de estudio, se quita el líquido que desprende la fruta y se vuelve a pesar. Esta diferencia de peso es la cantidad de agua que pierde la fruta.

El análisis de firmeza se realiza en el momento de abrir el envase. Se coge un trozo de fruta, se apoya en una superficie plana y limpia, y se baja con el medidor de firmeza a velocidad constante, sin hacer fuerza, hasta atravesar el pedazo de fruta.

3.2. Preparación de extractos

Para los ensayos posteriores, se deben preparar los extractos de las frutas a analizar. En este trabajo se han realizado dos tipos de extractos, los primeros han servido para comprobar qué concentración de disolvente es más adecuada para los ensayos. Los siguientes, se han realizado una vez comprobada la concentración adecuada, y se han utilizado para obtener resultados de cada fruta y compararlos.

3.2.1. Ensayos previos

Los extractos se preparan con metanol a concentraciones 0, 20, 40, 60, 80 y 100%. Así se puede observar qué concentración da el resultado óptimo para las lecturas, y qué dilución de muestra es mejor para los análisis.

Para hacer estos extractos, se corta, pela y tritura cada fruta en la batidora. Cuando esté bien triturado, se pesa 1g de puré y se mete en viales de 25 mL. A cada bote se le añadirán 2mL de metanol de concentraciones 0, 20, 40, 60, 80 y 100 %. Se pasan las muestras por la Ultraturrax durante 30 segundos, limpiando bien entre muestra y muestra. Se preparan 6 Eppendorf de 2 mL y se añade a cada uno la muestra correspondiente. Posteriormente, éstos se centrifugan durante 5 minutos a 10000 rpm. Se coge el sobrenadante y se mete en Eppendorf de 1,5mL, y se vuelve a centrifugar 5 minutos a 12000 rpm. De cada muestra se preparan tres diluciones (1:10, 1:100, 1:1000). Una vez hecho esto, los Eppendorf se congelan en la nevera de -80°C para poder realizar análisis posteriormente.

3.2.2. Ensayos definitivos

Una vez encontrada la concentración de disolvente adecuada, se puede proceder al análisis de antioxidantes de las muestras problema. Estos extractos se preparan de forma diferente, y se harán de concentraciones 1:2 y 1:10 para ORAC. Se pesa 1 gramo de polvo de fruta congelado a -80 °C en frascos roscados de polipropileno para muestras. A cada uno se le añaden 4 mL de disolvente de la concentración adecuada. Se agita bien y se cogen 2 mL, que se añaden en Eppendorf de esta cantidad. Estos Eppendorf se centrifugan durante 10 min a 12000 rpm.

3.3. Análisis actividad antirradicalaria

Existen diversas metodologías que comúnmente se utilizan para analizar la actividad antirradicalaria de las frutas. En este proyecto los análisis realizados en todas las frutas son TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC. Para poder realizar estos análisis, es necesario preparar extractos de las frutas a analizar tal como se ha explicado previamente en el apartado 3.2.

Material e instrumentos

Botella de vidrio ámbar 60 mL, botella vidrio ámbar 125 mL, botella de vidrio 500 mL, botella de vidrio 1L, cubetas de plástico 4,5 mL, depósito de reactivos, Eppendorf 1,5 mL con soporte, Eppendorf 2mL con soporte, matraz aforado de 5 mL, matraz aforado 10mL, matraz aforado de 50 mL, matraz aforado 100 mL, matraz aforado 500 mL, micropipeta 0,5-5mL + puntas, micropipeta 10-100 µL + puntas, micropipeta 200-1000µL, pipeta multicanal 20-300 µL + puntas, placa de 96 pocillos de 350 µL c/u (blanca y negra), probeta 5 mL, fluorímetro Fluostar Omega, agitador "Vórtex", espátula, balanza analítica, baño calefactor, pHmetro.

Reactivos

Agua Milli-Q (recién extraída), carbonato de sodio anhidro, reactivo Folin-Ciocalteu, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Sigma), Metanol (PA-ACS-ISO, Panreac), radical ABTS (debe estar un mínimo de 16 horas en la oscuridad antes de ser utilizado), tampón PBS (tabletas Sigma), acetato de sodio 3-hidrato, ácido acético glacial, ácido clorhídrico 37%, cloruro de hierro (III) hexahidratado, TPTZ, AAPH (2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride), fluoresceína (Fluorescein Sodium Salt), Trolox 97% (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carbonsaeure 97%) (Aldrich).

3.3.1. Polifenoles Totales

Procedimiento



Realizar una plantilla de la placa preparando los pocillos a realizar y lo que habrá en cada uno de ellos. Cada dilución se analizará por triplicado. Reservar tres pocillos para BLANK (agua) y tres para BLANCO (disolvente con que se ha realizado la muestra y reactivos).

Añadir 20 μL de muestra/disolvente (11,1 % en volumen) en cada pocillo, recordando que el triplicado se tomará del mismo Eppendorf. Para el Blank: añadir 260 μL de agua Milli-Q. En el blank no se añade ningún reactivo.

Para el resto de los pocillos, añadir 80 μL de Reactivo Folin-Ciocalteu (44,4 % en volumen). Añadir 80 μL de carbonato de sodio al 20% (44,4 % en volumen) y poner temporizador en marcha 1h. Poner la placa en el FLUOstar Omega, programa agitación. Una vez terminado el programa, dejar la placa en la oscuridad hasta que haya transcurrido la hora.

Una vez transcurrida la hora, añadir 80 μL de agua Milli-Q hasta conseguir un volumen total de 260 μL . Leer absorbancia.

Cálculos

EL contenido de polifenoles totales se expresa en mg de ácido gálico como equivalente de ácido gálico (GAE) por litro de muestra (ppm). Mediante el calibrado previo de absorbancia con patrones de ácido gálico se obtiene una recta que permite calcular la concentración de ácido gálico asociada a una determinada absorbancia.

3.3.2. DPPH

Procedimiento

Realizar una plantilla de la placa preparando los pocillos a realizar y lo que habrá en cada uno de ellos. Se debe tener en cuenta que cada dilución se analizará por triplicado. Reservar tres pocillos para BLANK (metanol) y BLANCO (disolvente con que se ha realizado la muestra y reactivos).

Encender Fluorímetro y fijar $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Preparar reactivo DPPH. Añadir 200 μL de metanol en los pocillos correspondientes al BLANK. Añadir 200 μL de reactivo DPPH (90, 9% en volumen) en todos los pocillos excepto en el BLANK. Hacer una primera lectura a tiempo 0 sin muestra.

Añadir 20 μL de muestra/blanco (9,1 % en volumen) en cada pocillo con ayuda de la pipeta multicanal (poner el cronómetro en marcha a partir de la primera adición). Hacer lectura a tiempo 0 con muestra. Una vez transcurridos los 15 minutos, hacer lectura con muestra a 15 minutos.

Cálculos



Los resultados de este método se expresan en equivalentes de Trolox por gramo de muestra, utilizando una recta de calibrado, que relaciona la inhibición de la muestra con los equivalentes de Trolox.

3.3.3. ABTS

Procedimiento

Realizar una plantilla de la placa preparando los pocillos a realizar y lo que habrá en cada uno de ellos. Se debe tener en cuenta que cada dilución se analizará por triplicado. Reservar tres pocillos para BLANK (PBS) y BLANCO (disolvente con que se ha realizado la muestra y reactivos).

Encender fluorímetro y ajustar $T=30^{\circ}\text{C}$. Preparar reactivo ABTS. Para hacer el blank, añadir 200 μL de PBS en los pocillos correspondientes de la placa. En el resto de los pocillos, añadir 200 μL de radical ABTS (90,9 % en volumen) con ayuda de la pipeta multicanal y el recipiente de plástico correspondiente.

Una vez la temperatura del fluorímetro sea de 30 grados, hacer lectura de absorbancia a tiempo 0. Sin extraer la placa de fluorímetro, iniciar protocolo ABTS cinética. Una vez terminado, extraer placa y añadir 20 μL de muestra/blanco (9,1 % en volumen), teniendo en cuenta que cada triplicado se tomará del mismo Eppendorf. Leer absorbancia cada 15 minutos aproximadamente.

Cálculos

Mediante la recta de calibrado se calculan los equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

3.3.4. FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*)

Procedimiento

Realizar una plantilla de la placa preparando los pocillos a realizar y lo que habrá en cada uno de ellos. Se debe tener en cuenta que cada dilución se analizará por triplicado. Reservar tres pocillos para BLANK (PBS) y BLANCO (disolvente con que se ha realizado la muestra y reactivos).

Ajustar temperatura del fluorímetro a $T=37^{\circ}\text{C}$. Preparar reactivo FRAP. Para hacer el BLANK, añadir 220 μL de Buffer acetato 300 mM. Al resto de pocillos (NO al BLANK), añadir 200 μL de reactivo FRAP (90,9 % en volumen).

Una vez el fluorímetro ha llegado a 37°C , leer absorbancia a tiempo 0. Extraer la placa y añadir 20 μL de muestra /blanco (9,1 % en volumen) según la plantilla realizada anteriormente, teniendo en cuenta que cada triplicado se tomará del mismo Eppendorf. Leer absorbancia a los 15 y 30 minutos.

Cálculos

Igual que en los anteriores métodos, mediante la recta de calibrado se expresan los resultados en equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

3.3.5. ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Procedimiento

Preparar las diluciones de fluoresceína. Preparar los patrones de Trolox, mantener en nevera y protegido de la luz hasta su utilización. Pesar 0,4068 de AAPH en probeta de 5 mL. Mantener en desecador y protegido de la luz hasta su utilización.

Realizar una plantilla de la placa preparando los pocillos a realizar y lo que habrá en cada uno de ellos. Se debe tener en cuenta que cada dilución se analizará por triplicado. Reservar tres pocillos para BLANK (PBS), tres pocillos para BLANCO (disolvente con que se ha realizado la muestra y reactivos, blanco del método) y tres pocillos para blanco de patrón (PBS). Se deben disponer de, al menos, 5 patrones de Trolox (de los cuales se harán triplicados).

Incubar el PBS 13,3 mM a 37 °C. Ajustar la temperatura del fluorímetro a 37 °C. Para el BLANK, añadir 200 µL de PBS en los pocillos correspondientes. Añadir 40 µL de muestra/patrón/PBS/disolvente (40% en volumen) en los pocillos correspondientes, siguiendo la distribución planificada.

Añadir 120 µL de fluoresceína (60% en volumen) a cada pocillo, con ayuda de la pipeta multicanal. Introducir la placa en el fluorímetro e iniciar el protocolo de agitación. Iniciar protocolo ORAC y realizar el GAIN ADJUSTMENT. Iniciar la lectura.

Mientras se realiza la primera lectura, preparar el AAPH, enrasando con la probeta a 5 mL. Agitar hasta disolver completamente.

Extraer placa y añadir rápidamente 40 µL de AAPH (20 % en volumen) a cada pocillo con ayuda de la pipeta multicanal. Colocar la placa en el soporte. Leer fluorescencia durante 2:30h.

Cálculos

En este caso, la recta de calibrado se debe realizar para cada placa, ya que se trata de un método muy sensible. Una vez calculada la recta de calibrado, los resultados también se expresan en equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

3.4. Análisis microbiológico

Se realiza un análisis microbiológico con tal de detectar una fuente de posibles anomalías en los análisis realizados, es decir, como control. Con tal de determinar la cantidad de hongos y levaduras presentes en la fruta, se realiza un análisis microbiológico de éstas siguiendo la metodología de siembra por superficie en masa de placas Petri. Este método se basa en repartir homogéneamente, mediante la vara Digrafsky, partes alícuotas de muestra por toda la superficie del medio de cultivo. El número de colonias que han crecido en la superficie del medio de cultivo y la cantidad de muestra sembrada en cada placa nos permiten saber el número de microorganismos por gramo o mililitro de muestra o dilución (65). En este proyecto se han utilizado dos tipos de Agar: PCA (*Plate Count Agar*), para realizar el recuento total de bacterias aeróbicas y TSA (*Tryptone Soya Agar*) para realizar el recuento total de hongos y levaduras.

3.4.1. Preparación AGAR

El medio de cultivo AGAR se presenta en forma de polvo, así que será necesario disolverlo para su preparación, tal como indica el fabricante. Preparar la cantidad deseada en un tarro de cristal con tapa azul. Marcar los tarros con cinta indicadora de esterilización.

Esterilizar en autoclave durante 20 minutos a 126°C, e introducir en una estufa a unos 55 °C para que no solidifique.

3.4.2. Preparación Ringer

El ringer se presenta en forma de tableta, es necesario disolverlo para su preparación. Disolver una pastilla de ringer en 1000 mL de agua destilada. Así pues, hará falta calcular previamente las tabletas necesarias en función del volumen deseado. Introducir 9 mL de ringer en viales de tapa negra, marcar con cinta indicadora de esterilización y esterilizar en autoclave 20 minutos a 126 °C.

3.4.3. Siembra de superficie en masa

Cuando el Agar se haya enfriado y esté a unos 55 °C, introducirlo en cada placa hasta llenar algo menos de la mitad. El Agar no debe estar demasiado caliente en este proceso ya que puede condensar agua que contaminaría el medio de cultivo. Dejar enfriar hasta que solidifique. Una vez enfriado, tapar, colocar con la tapa hacia abajo y escribir en la parte inferior lo que contiene. Este proceso se realiza en una cabina de flujo laminar previamente esterilizada con luz ultravioleta.

Se preparan las soluciones (1 mL fruta + 9 mL ringer) en tubos de tapa negra. Agitar el tubo con ayuda de un agitador (Vortex), pipetear 100 µL del cultivo líquido con una micropipeta y depositar en la superficie del medio de la placa. Esterilizar la varilla de cristal Digrafsky acercándola a la llama Bunsen,

dejándola enfriar y sin que toque ninguna superficie o material contaminado. Inmediatamente después, extender el inóculo por toda la placa con la vara Digralsky, aplicando una ligera presión y efectuando movimientos de rotación hasta que el inóculo quede totalmente absorbido. En este momento, tapar la placa e incubar a 30°C en una estufa en posición invertida, para evitar que el agua de condensación caiga sobre el medio.

Cada vez que se use la vara o una pinza, esterilizar usando etanol y acercar al Bunsen, dejando que salga llama. Esperar a que se enfríe antes de usar.

Además, cada vez que se realiza la siembra de placas, se debe realizar también un control de Ringer y Agar sin muestra. Esto sirve para establecer si las placas pueden tener algún crecimiento que no provenga de la propia fruta, sino que se deba a una mala realización del análisis (p.e. incorrecta esterilización del agar).

3.4.4. Lectura de la placa

Se observan colonias en el medio de cultivo. Se recomienda usar un cuentacolonia para hacer más fácil la lectura. Si no se dispone de cuentacolonia, éstas se deben contar a contraluz para poder verlas todas. Se gira la placa y, a medida que se van contando colonias, se van marcando con un rotulador en la base de la placa (donde se encuentra el medio de cultivo) para no dejar ninguna sin contar y no contar alguna dos veces. Si el recuento no se realiza en el mismo momento de quitar las placas de la estufa, estas se pueden conservar en nevera, entre 4 y 10°C, por un máximo de 24h.

Para obtener el número de microorganismos por unidad de peso o volumen de muestra analizada, se cuentan las placas que contienen entre 30 y 300 colonias, se calcula la media aritmética y se multiplica por la inversa de la dilución y por la inversa del volumen de inóculo sembrado en las placas.

$$\text{Num.} \frac{\text{microorganismos}}{\text{g o mL}} = \text{media aritmética} \times \frac{1}{\text{dilución}} \times \frac{1}{\text{inóculo}}$$

3.5. Vitamina C

Para el análisis de vitamina C, se hacen dos lecturas. Una en que se mira cuanto ascorbato oxidasa (AO) pasa a dehydroascorbato (DTT) y otra en que se mide lo contrario: la cantidad de DTT que pasa a AO. Se mide lo que hay de uno y otro en las muestras y se suma. Esta suma es el ascorbato total, es decir, ácido ascórbico.

3.5.1. Extracción

Material e instrumentos

Triturador Retsch Biometa, baño ultrasonidos Branson, espectrofotómetro Bio Rad, eppendorf 2 mL, agitador Vortex, centrífuga

Reactivos

Buffer de extracción (6% ácido metafosfórico y DTPA 0,2 mM), buffer de dilución (fosfato dipotásico 100mM).

La extracción se realiza en dos pasos con tal de que sea más efectiva. Para esto, se coge la fruta del congelador de -80 °C y se pone en nitrógeno líquido para que no se descongele (dentro de la bolsita de plástico donde estaba guardada).

Para realizar la extracción, se trituran las muestras en un triturador marca Retsch Biometa. En este triturador se pueden triturar dos muestras a la vez. Así pues, se introduce una pieza de la misma fruta en cada frasco, y se pone la bolita dentro. Se ponen los dos recipientes en la trituradora, durante 1 min 30 segundos. Una vez pasado este tiempo, abrir con cuidado las dos cubetas, ya que pueden quemar porque contienen muestras a -80 °C. El polvo obtenido se mete en unos tubos de plástico.

Para realizar la doble extracción, se seguirá la siguiente tabla:

Tabla 5. Extracciones para el análisis.

Peso polvo	Primera adición	Segunda adición
50 mg	175 µL	175 µL
100 mg	500 µL	500 µL
300 mg	1 mL	1 mL

Se pesarán las cantidades anteriores en Eppendorf de 2 mL. Es importante que la fruta no se descongele hasta que esté totalmente con buffer de extracción.

Se hace la primera adición de buffer en todos los Eppendorf y se vortean.

Se ponen las muestras en el sonicador durante 30 minutos, añadiendo hielo y en la oscuridad. Una vez pasado este tiempo, se vortean las muestras y se centrifugan durante 10 minutos a 10000 rpm y 4 °C. Se recoge el sobrenadante y se pone en Eppendorf nuevos.

La segunda adición de buffer se hace sobre el pellet que queda al quitar el sobrenadante. Poner la cantidad de buffer correspondiente a la segunda adición. Vortear y poner la muestra en el baño de ultrasonidos (igual que en la primera adición).

Pasados los 30 minutos, se vuelve a vortear la muestra y se centrifuga 10 minutos a 10000 rpm y 4 °C. El sobrenadante resultante se añade a los Eppendorf que guardamos con el sobrenadante de la primera extracción. Volver a centrifugar 2 minutos.

Una vez en el buffer ya se puede descongelar, pero se mantendrán los Eppendorf fríos poniendo el soporte sobre hielo y en la oscuridad.

3.5.2. Preparación placa para análisis

Mientras los Eppendorf están en el sonicador, se pueden ir preparando las enzimas necesarias para el análisis, que son muy sensibles. Se añade buffer en todos los pocillos. Las tres primeras columnas son de AO, las tres siguientes de DTT y las tres últimas contienen solo las muestras fruta solo con buffer. Añadir la cantidad necesaria de AO y DTT en cada pocillo, habiendo realizado previamente el cálculo.

Cálculos

Mediante la recta de calibrado se obtiene la cantidad de ascorbato oxidasa y de dehydroascorbato. La suma de éstos da la cantidad total de ácido ascórbico en $\mu\text{mol/g}$ muestra fresca.

3.6. Azúcares, pH y acidez titulable

Para medir la cantidad de azúcares (TSS), pipetear 1 mL de agua destilada y ponerlo en refractómetro para realizar el cero. Después, pipetear 1 mL del líquido que desprende la fruta y anotar TSS que aparecen en la pantalla en °Brix.

Para medir el pH, se pesan 5 gramos de polvo de fruta y se suspenden en 10 mL de agua Milli-Q. Se mide pH con pHmetro Crison, previamente calibrado.

Para medir la acidez titulable, se cogen los 10 mL que se han utilizado para medir el pH y se diluyen en 100 mL de agua Milli-Q. Se hace una valoración ácido base con NaOH de concentración 0,1 M y fenolftaleína como indicador. La acidez titulable se expresa con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ acidez} = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot M \cdot M_{\text{eq}}}{P}$$

Donde:

V_{NaOH} es el volumen añadido de hidróxido de sodio

M es la Molaridad del hidróxido de sodio

M_{eq} es la masa equivalente de ácido

P es el peso de la muestra analizada

El ácido prevalente en las diferentes frutas analizadas es el ácido cítrico, por lo que se coge su masa equivalente para realizar los cálculos, que es de 0,64 g (66).

4. Resultados y discusión

4.1. Gases y pérdida de agua

Para la realización de estos ensayos, se procede tal como se describe en el apartado 3.1. A continuación, se presentan los resultados en forma de tabla para cada fruta, tanto sola como en el bol del *mix* (donde la pérdida de agua se expresa como el total del bol, ya que sería muy difícil separar la pérdida de agua de las distintas frutas en la misma bandeja). Además, se ha realizado un análisis estadístico para establecer si las medias en los diferentes tiempos de análisis son iguales o si, por el contrario, existen diferencias estadísticamente significativas entre los diversos días de análisis. Valores seguidos de letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre las medias de cada fruta para cada tiempo.

Tabla 6. Resultados análisis de pérdida de agua (en gramos) y análisis de gases O₂ y CO₂ en porcentaje. Ambos resultados se expresan acompañados de su desviación estándar.

muestra	Gases		
	Pérdida de agua (g)	O ₂ (%)	CO ₂ (%)
kiwi			
4h	0,30 ^a ± 0,20	19,46 ^a ± 0,24	2,16 ^a ± 0,51
1 día	0,22 ^a ± 0,06	16,97 ^a ± 1,14	6,48 ^b ± 1,48
2 días	0,39 ^a ± 0,06	16,29 ^a ± 1,36	6,64 ^b ± 1,22
4 días	0,22 ^a ± 0,16	17,98 ^a ± 2,29	3,18 ^a ± 2,43
6 días	0,95 ^b ± 0,20	16,98 ^a ± 2,50	4,38 ^a ± 2,48
mango			
4h	0,00 ^a ± 0,00	18,85 ^a ± 0,18	2,76 ^a ± 0,32
1 día	0,02 ^a ± 0,04	16,85 ^a ± 0,55	4,22 ^a ± 0,44
2 días	0,31 ^b ± 0,19	16,00 ^a ± 1,21	4,34 ^a ± 0,59
4 días	0,90 ^c ± 0,20	18,23 ^a ± 2,29	3,14 ^a ± 2,67
6 días	1,16 ^c ± 0,21	15,56 ^a ± 4,71	3,36 ^a ± 2,30
naranja			
4h	2,04 ^a ± 0,62	19,59 ^a ± 0,09	2,06 ^a ± 0,21
1 día	2,32 ^a ± 0,43	19,37 ^a ± 0,31	2,74 ^b ± 0,61
2 días	1,43 ^a ± 0,46	18,03 ^b ± 0,65	3,76 ^b ± 0,64
4 días	4,44 ^b ± 0,36	19,85 ^a ± 0,30	1,14 ^a ± 0,67
6 días	2,81 ^a ± 0,47	16,96 ^c ± 1,48	3,10 ^b ± 1,08
piña			
4h	0,02 ^a ± 0,04	19,62 ^a ± 0,10	1,64 ^a ± 0,27
1 día	1,85 ^b ± 0,21	18,29 ^a ± 0,83	2,84 ^b ± 0,75
2 días	3,45 ^c ± 0,41	18,27 ^a ± 6,51	3,64 ^b ± 1,54
4 días	2,22 ^b ± 0,58	15,88 ^a ± 1,19	3,60 ^b ± 0,60
6 días	4,22 ^d ± 0,20	16,22 ^a ± 2,80	3,10 ^b ± 1,44
mix			
4h	0,82 ^a ± 0,50	19,38 ^a ± 0,11	2,60 ^a ± 0,34
1 día	1,53 ^a ± 0,41	18,78 ^a ± 0,61	2,76 ^a ± 0,63
2 días	2,70 ^a ± 1,27	17,29 ^a ± 0,95	4,84 ^b ± 0,73
4 días	2,14 ^a ± 0,37	16,74 ^a ± 1,19	3,84 ^b ± 0,67
6 días	3,34 ^a ± 1,48	14,13 ^b ± 3,09	4,84 ^b ± 2,03

En la Tabla 6 se muestran los resultados de los análisis de pérdida de agua y la evolución de los gases a lo largo del tiempo de muestreo.

La pérdida de agua es uno de los factores que más afecta a la degradación de la fruta (67), afectando sobre todo a la turgencia y apariencia de ésta. Además, es fácilmente detectable por el consumidor

con lo que afecta gravemente a la calidad sensorial final del producto. Tal como se explica en el apartado 1.3.2.2, el comportamiento habitual, a medida que aumenta el tiempo de conservación de la fruta, es un incremento de la pérdida de agua.

Los resultados indican que las frutas que se ven más afectadas por la pérdida de agua son la piña y la naranja. El mango y el kiwi tienen valores inferiores, por lo que no se ven tan afectados por este mecanismo de envejecimiento. El bol del *mix*, como es de esperar, se encuentra en un rango de valores intermedio, ya que se trata de una mezcla a partes iguales de todas las frutas.

Todas las frutas tienen un comportamiento parecido, en que se produce un aumento gradual de la pérdida de agua a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento. Por ejemplo, en el kiwi y el mango, a pesar de haber algunas fluctuaciones, la pérdida de agua va aumentando, llegando a ser significativamente mayor al final del tiempo de muestreo. Lo mismo ocurre en el bol del *mix*, donde, si bien no existen diferencias significativas entre las medias, desde un punto de vista cualitativo se aprecia un aumento claro y gradual de la pérdida de agua (moviéndose en un rango entre 0,82-3,34 g de agua).

Los resultados para la naranja y la piña presentan algunas fluctuaciones; numéricamente se observa diferencia entre el primer y el último tiempo de muestreo en ambas frutas.

Debido al proceso de respiración inherente a la fruta, la concentración de los gases dentro de la bandeja a lo largo del tiempo de estudio cambia, consumiendo O_2 y desprendiendo CO_2 . La respiración de la fruta mínimamente procesada es otro de los factores que afectan al tiempo de conservación de ésta, es por ello por lo que se intenta retrasar este proceso lo máximo posible. La evolución habitual de esta característica es, tal como se ha explicado en el apartado 1.3.2.1, a una disminución de la cantidad de O_2 y un aumento del CO_2 .

Este comportamiento puede apreciarse en los datos recogidos en la Tabla 6. Por ejemplo, el porcentaje de O_2 en el kiwi, el mango y la piña, a pesar de que estadísticamente no haya diferencias significativas, desde un punto de vista numérico tiende a una disminución. En el caso de la naranja, esta disminución sí llega a ser significativa el último día de análisis. El bol del *mix* tiene un comportamiento parecido al de la naranja, con una disminución significativa el último día de estudio, donde además se encuentra el porcentaje mínimo de O_2 de todo el análisis.

La evolución del CO_2 sigue el proceso inverso, aumenta a lo largo del tiempo. Este comportamiento se visualiza claramente en la piña y en el bol del *mix*, donde el aumento del porcentaje de CO_2 es significativo en ambos casos.

Desde un punto de vista global, es interesante destacar el comportamiento del bol del *mix*, donde se aprecia tanto una disminución significativa del porcentaje de O_2 , como un aumento del porcentaje de CO_2 , es decir, un aumento de la tasa de respiración (Figura 5). Esto probablemente se deba a que el

kiwi se ha mezclado con el mango en el bol, que es un fruto climatérico y por tanto desprende etileno durante su maduración (a pesar de haber sido arrancado del árbol), y el kiwi (no climatérico), fruto muy sensible al etileno (68), ha acelerado su maduración produciendo cantidades elevadas de dióxido de carbono.

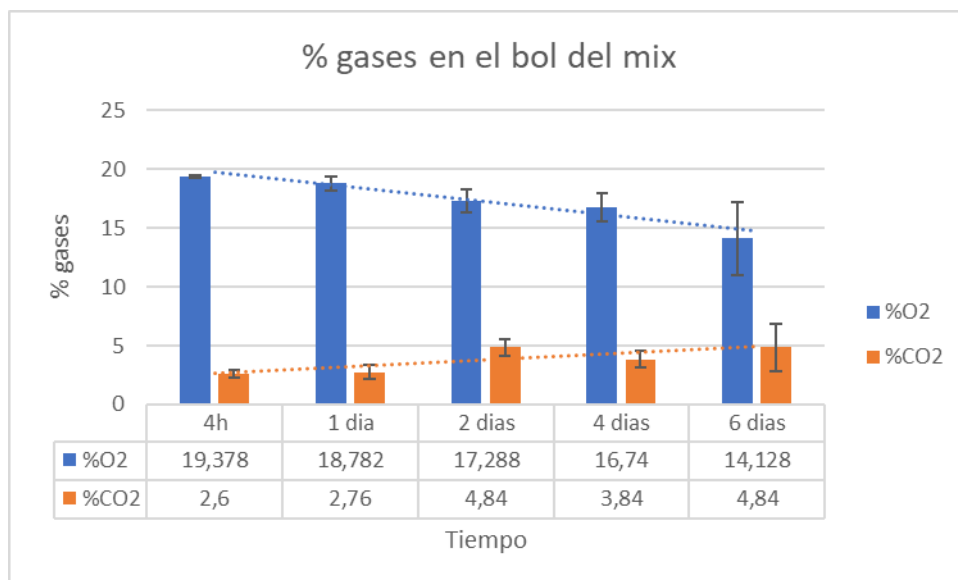


Figura 5. Evolución de las concentraciones de O_2 y CO_2 .

4.2. Firmeza

Para este análisis se procede tal como está descrito en el apartado 3.1. Además, se ha realizado un análisis estadístico para establecer si las medias en los diferentes tiempos de análisis son iguales o si, por el contrario, existen diferencias estadísticamente significativas entre los diversos tiempos de análisis. Valores seguidos de letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre las medias de cada fruta para cada tiempo.

Tabla 7. Resultados análisis de firmeza en kilogramos, acompañados de su desviación estándar.

muestra	Firmeza (kg)	
	Kiwi	Kiwi mix
0h	1,20 ^a ± 0,13	1,20 ^a ± 0,13
4h	0,41 ^c ± 0,38	0,54 ^b ± 0,13
1 día	0,92 ^b ± 0,20	1,16 ^a ± 0,20
2 días	0,83 ^b ± 0,11	0,80 ^b ± 0,22
4 días	0,56 ^b ± 0,09	0,54 ^b ± 0,18
6 días	0,42 ^c ± 0,20	0,65 ^b ± 0,08
	Mango	Mango mix
4h	1,48 ^a ± 0,14	0,42 ^a ± 0,10
1 día	1,41 ^a ± 0,18	1,49 ^b ± 0,19
2 días	1,13 ^a ± 0,20	0,9 ^c ± 0,06
4 días	0,69 ^a ± 0,15	0,93 ^c ± 0,09
6 días	2,20 ^b ± 0,90	0,68 ^c ± 0,31
	Naranja	Naranja mix
0h	1,12 ^a ± 0,08	1,12 ^a ± 0,08
4h	0,82 ^b ± 0,20	0,96 ^a ± 0,15
1 día	0,64 ^b ± 0,13	1,27 ^a ± 0,10
2 días	1,07 ^a ± 0,14	0,78 ^a ± 0,07
4 días	0,76 ^b ± 0,07	0,71 ^a ± 0,23
6 días	0,88 ^b ± 0,13	0,78 ^a ± 0,27
	Piña	Piña mix
0h	1,48 ^a ± 0,07	1,48 ^a ± 0,07
4h	1,45 ^a ± 0,26	1,58 ^a ± 0,34
1 día	1,27 ^b ± 0,11	1,23 ^b ± 0,16
2 días	0,99 ^b ± 0,09	0,77 ^c ± 0,07
4 días	1,16 ^b ± 0,22	0,87 ^c ± 0,09
6 días	0,73 ^c ± 0,15	0,78 ^c ± 0,16

Los resultados recogidos en la Tabla 7 muestran los datos del análisis de firmeza para cada fruta tanto sola como en el bol del mix. La pérdida de firmeza es una característica típica de la sobre-maduración

de la fruta. Este fenómeno cambia la textura de la fruta y conlleva una pérdida de la turgencia. Tal como se explicaba en el apartado 3.1, esta pérdida está relacionada con la pérdida de agua de la fruta. Así pues, la firmeza, teóricamente, disminuye a lo largo de los días (67).

Tanto en el kiwi sólo como en el del *mix*, el valor máximo de firmeza se encuentra para el tiempo inicial. En ambos casos (sólo y en *mix*) hay una disminución muy pronunciada de la firmeza a las 4 horas. Las muestras consecutivas (1, 2, 4 y 6 días) también van disminuyendo. Sin embargo, parece que el descenso inicial sea más pronunciado (incluso los valores son significativamente diferentes). Esto, *a priori*, no tiene una explicación evidente. Quizás se deba más a la propia dificultad de tomar el valor en un tiempo tan corto (la preparación de las muestras abarca varias horas) que a un valor que debamos tener en cuenta. La disminución observada, de manera gradual a lo largo del tiempo, a partir de las 24 horas de conservación, es un resultado predecible (68) y debido a la degradación de la fruta por la pérdida de agua, como uno de los síntomas de disminución de la firmeza.

Los resultados del mango indican que no hay diferencias estadísticamente significativas. Se observan valores atípicos, sin una explicación clara. Por ejemplo, en el mango sólo, el último día es superior y en el *mix*, al cabo de 24 horas, también existe un incremento significativo. Ello puede ser debido más a la heterogeneidad de la muestra (en este caso, a pesar de intentar tener todos los pedazos con el mismo grado de madurez, nos encontramos con mangos cuya dureza inicial era superior) que a un aumento evidente de la firmeza. Prescindiendo de los únicos 2 valores atípicos, se puede decir que sigue la tendencia de disminución de la firmeza que se encuentra en la bibliografía (69).

Tanto la naranja como la piña tienen un comportamiento más parecido a lo que cabía esperar (exceptuando algún punto anómalo en la naranja) con una tendencia clara a la disminución de la firmeza. En el caso de la naranja del *mix*, no existen diferencias significativas a lo largo del tiempo de muestreo. Sin embargo, desde un punto de vista cualitativo sí que se observa un decremento entre el primer y el último tiempo de estudio. También la piña del *mix* muestra un comportamiento típico de decremento progresivo de la firmeza (70), tal como se puede ver en la Figura 6.

En global, de todas las frutas analizadas la que tiene una mayor disminución de la firmeza es el kiwi, reduciéndose ésta hasta casi un tercio del valor inicial. La naranja tiene una evolución de la firmeza menos pronunciada, si bien existen diferencias significativas entre el valor inicial y el final. La piña presenta una disminución intermedia entre las dos frutas anteriormente comentadas, disminuyendo su firmeza hasta casi la mitad entre el primer y el último tiempo de muestreo. En ninguna de las frutas existe una diferencia remarcable de la firmeza entre la muestra de sola y la muestra del *mix*.

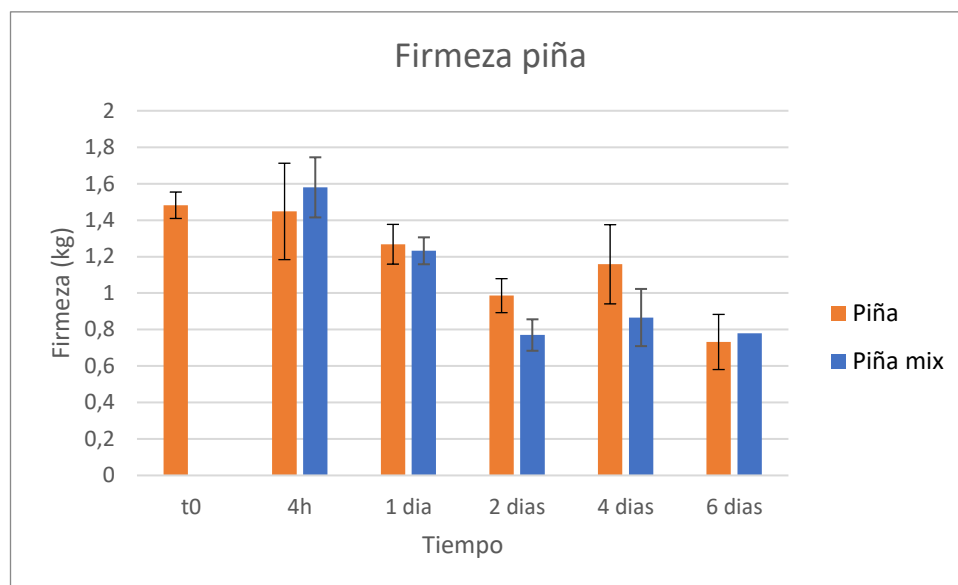


Figura 6. Evolución de la firmeza (kg) en las muestras piña y piña mix.

4.3. Azúcares, pH y acidez titulable

Para realizar estos ensayos se procede tal como está descrito en el apartado 3.6. Los resultados se expresan en forma de tabla. Las unidades utilizadas para expresar la cantidad de azúcares son grados Brix (°Brix). El pH se mide en unidades de pH y la acidez titulable como % acidez. Además, se ha realizado un análisis estadístico con tal de determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias para las diferentes frutas en cada tiempo. Valores seguidos de letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre las medias de cada fruta para cada tiempo.

Tabla 8. Resultados de los análisis pH (en unidades de pH), Contenido sólidos solubles TSS (en °Brix) y acidez titulable (TA) expresada en %.

Muestra	pH	TSS (°Bx)	TA (%)	pH	TSS (°Bx)	TA (%)
	kiwi			kiwi mix		
0h	3,42 ^a ± 0,03	14,76 ^a ± 0,47	14,27 ^a ± 0,89	3,42 ^a ± 0,03	14,76 ^a ± 0,47	14,27 ^a ± 0,89
4h	3,37 ^a ± 0,01	15,02 ^a ± 0,31	14,80 ^a ± 0,17	3,31 ^b ± 0,07	14,4 ^a ± 0,71	14,13 ^a ± 1,24
1 día	3,56 ^b ± 0,06	14,18 ^a ± 1,20	12,94 ^b ± 0,42	3,33 ^b ± 0,02	13,54 ^a ± 1,6	12,99 ^a ± 2,30
2 días	3,48 ^b ± 0,05	13,44 ^b ± 1,17	12,44 ^b ± 0,52	3,37 ^b ± 0,03	14,56 ^a ± 0,96	13,06 ^a ± 1,37
4 días	3,47 ^b ± 0,04	11,48 ^c ± 0,30	13,31 ^b ± 0,19	3,47 ^a ± 0,05	12,00 ^b ± 0,69	12,70 ^a ± 0,92
6 días	3,60 ^c ± 0,05	13,70 ^b ± 0,39	12,01 ^c ± 0,47	3,42 ^a ± 0,06	12,52 ^b ± 1,00	12,06 ^a ± 0,91
	mango			mango mix		
4h	3,22 ^a ± 0,08	13,24 ^a ± 0,63	8,53 ^a ± 0,33	4,14 ^a ± 0,08	13,08 ^a ± 1,28	1,68 ^a ± 0,12
1 día	3,45 ^b ± 0,03	12,80 ^a ± 1,28	5,78 ^b ± 0,42	3,38 ^b ± 0,03	14,72 ^a ± 0,76	3,85 ^b ± 0,29
2 días	3,30 ^b ± 0,05	11,62 ^a ± 2,08	7,17 ^b ± 0,69	3,46 ^b ± 0,04	14,52 ^a ± 0,26	3,16 ^c ± 0,61
4 días	3,31 ^b ± 0,04	11,28 ^a ± 1,05	5,41 ^c ± 1,13	3,39 ^b ± 0,06	9,98 ^b ± 0,99	1,54 ^a ± 0,56
6 días	3,26 ^a ± 0,04	11,28 ^a ± 1,05	4,65 ^c ± 1,01	3,57 ^c ± 0,04	13,58 ^a ± 0,98	3,55 ^b ± 0,97
	naranja			naranja mix		
0h	3,66 ^a ± 0,18	11,92 ^a ± 0,53	8,39 ^a ± 1,70	3,66 ^a ± 0,18	11,92 ^a ± 0,53	8,39 ^a ± 1,70
4h	3,59 ^b ± 0,08	11,96 ^a ± 0,49	9,43 ^a ± 1,11	4,01 ^b ± 0,10	11,84 ^a ± 0,80	3,81 ^b ± 0,75
1 día	3,92 ^a ± 0,23	11,34 ^a ± 0,51	7,89 ^a ± 1,91	3,75 ^a ± 0,21	10,66 ^a ± 0,89	3,89 ^b ± 0,94
2 días	3,91 ^a ± 0,15	11,38 ^a ± 1,05	5,76 ^b ± 1,26	3,88 ^b ± 0,10	11,34 ^a ± 0,56	3,43 ^b ± 0,86
4 días	3,62 ^a ± 0,12	10,72 ^a ± 0,73	9,07 ^a ± 0,83	3,68 ^a ± 0,14	9,94 ^a ± 0,94	4,50 ^c ± 0,64
6 días	3,73 ^a ± 0,10	11,14 ^a ± 0,42	8,64 ^a ± 0,17	3,49 ^c ± 0,12	11,22 ^a ± 1,70	4,42 ^c ± 0,17
	piña			piña mix		
0h	3,60 ^a ± 0,05	15,16 ^a ± 0,79	8,16 ^a ± 0,69	3,60 ^a ± 0,05	15,16 ^a ± 0,79	8,16 ^a ± 0,69
4h	3,68 ^a ± 0,04	12,68 ^b ± 0,47	7,72 ^b ± 0,85	3,34 ^b ± 0,04	13,66 ^a ± 1,68	3,86 ^b ± 0,68
1 día	3,63 ^a ± 0,03	14,42 ^a ± 0,89	6,52 ^b ± 1,11	3,38 ^b ± 0,01	14,82 ^a ± 0,73	3,48 ^b ± 0,96
2 días	3,43 ^b ± 0,06	13,28 ^c ± 0,58	6,48 ^b ± 0,48	3,42 ^b ± 0,04	13,34 ^a ± 1,34	3,15 ^b ± 0,82
4 días	3,73 ^c ± 0,13	13,10 ^c ± 0,92	4,04 ^c ± 0,57	3,59 ^a ± 0,12	11,10 ^b ± 0,79	2,83 ^c ± 0,36
6 días	3,75 ^c ± 0,01	11,92 ^b ± 1,02	7,66 ^b ± 0,44	3,57 ^a ± 0,03	14,58 ^a ± 1,54	2,55 ^c ± 0,20

Para la caracterización fisicoquímica de la fruta suelen utilizarse los parámetros: pH, TSS (*Total Soluble Solids*) y TA (*Titrateable Acidity*).

Los resultados para el análisis de pH mostrados en la

Tabla 8 muestran, a pesar de que existen diferencias significativas en las muestras, un rango de valores muy pequeño para todas ellas (entre 3 y 4). Esto es un buen indicador de la calidad de la fruta de IV gama, ya que según la bibliografía consultada, el mantenimiento del pH a unos niveles constantes ha sido probado como uno de los factores que más ayudan a prolongar la vida de la fruta (71).

Por ejemplo, en el caso del kiwi del bol de *mix*, se observa que a pesar de existir diferencias significativas desde el tiempo 0 del ensayo hasta el último día, desde un punto de vista cualitativo el rango de variación del pH oscila dentro de un rango muy reducido (3,31-3,47) por lo que se podría considerar que se mantiene constante a lo largo del tiempo de ensayo. En todas las frutas el comportamiento es parecido, pequeñas fluctuaciones en un rango pequeño, aunque con diferencias significativas entre las medias.

El TSS (Sólidos Solubles Totales) también es otro de los factores indicadores de la madurez de la fruta más importante y comúnmente utilizados. Algunos estudios sugieren que la acumulación de azúcares está fuertemente relacionada con el desarrollo de la calidad óptima para el consumo. Es más, ha sido establecido que las frutas con más contenido de TSS son, generalmente, preferidas por los consumidores (72).

Los resultados en el mango y la naranja (tanto solas como en el bol del *mix*) no tienen diferencias significativas a lo largo del tiempo de muestreo (a excepción de algún punto anómalo en el mango del *mix*). Por otro lado, en el kiwi y la piña sí se han detectado diferencias significativas, con una tendencia hacia a la disminución del contenido de azúcares. A pesar de que desde un punto de vista estadístico esta diferencia sea importante, desde un punto de vista numérico el rango de valores entre los que fluctúa el contenido de TSS no es amplio (12-14,76 °Brix en el kiwi del bol del *mix*).

El último parámetro analizado es la acidez titulable (TA). Los ácidos orgánicos son utilizados durante la respiración del fruto, por lo que son esenciales en el ciclo respiratorio (72). En consecuencia, teóricamente, la acidez disminuye a lo largo del tiempo de conservación (73) lo que coincide con los resultados obtenidos en las frutas analizadas. En todos los casos se ha obtenido una disminución significativa de la acidez titulable a lo largo del tiempo de muestreo (a excepción del mango del *mix*, cuyo comportamiento no tiene una explicación obvia).

Si bien este último parámetro no parece mostrar diferencias entre el kiwi solo y el kiwi del bol del *mix*, donde el valor obtenido es muy similar, sí que se denota una gran diferencia entre la naranja y la

naranja del *mix*, donde la acidez titulable de ésta última es muy inferior al rango encontrado para los mismos tiempos en las muestras de naranja sola. Lo mismo ocurre en el caso de la piña. Esto puede indicar que la maduración de la piña y la naranja en el bol del *mix* se ha acelerado, ya que la velocidad de descenso de la acidez titulable es mucho mayor en estos casos.

4.3.1. Índice de madurez

Mediante dos de los parámetros mencionados en el apartado 4.3, se obtiene un indicador muy utilizado para establecer la madurez de la fruta es el denominado índice de madurez. Este se calcula dividiendo los TSS entre la acidez titulable (TA), y da una idea de la evolución de la madurez de la fruta a lo largo del tiempo de muestreo. A mayor valor de este indicador, mayor es el grado de madurez de la fruta, y por tanto peor su estado de conservación. Los índices de madurez de las muestras de este estudio se encuentran en la Tabla 9.

Tabla 9. Índice de madurez de la fruta analizada.

muestra	kiwi	kiwi <i>mix</i>
0h	1,03	1,03
4h	1,02	1,02
1 día	1,10	1,04
2 días	1,08	1,11
4 días	0,86	0,94
6 días	1,14	1,04
	mango	mango <i>mix</i>
4h	1,55	7,80
1 día	2,22	3,82
2 días	1,62	4,60
4 días	2,08	6,49
6 días	2,43	3,82
	naranja	naranja <i>mix</i>
0h	1,42	1,42
4h	1,27	3,11
1 día	1,44	2,74
2 días	1,98	3,30
4 días	1,18	2,21
6 días	1,29	2,54
	piña	piña <i>mix</i>
0h	1,86	1,86
4h	1,64	3,54
1 día	2,21	4,26
2 días	2,05	4,24
4 días	3,24	3,92
6 días	1,56	5,71

Tal como se aprecia en la Tabla 9, el índice de madurez se mantiene prácticamente constante a lo largo del tiempo de muestreo, a excepción de la piña del bol del *mix*, donde el índice aumenta de manera gradual a medida que pasan los días (este comportamiento es de esperar, ya que el estado de conservación de la fruta empeora a lo largo del tiempo) y del mango, donde el valor inicial del índice de madurez es el mayor. Esto puede ser debido a que los pedazos escogidos para realizar el análisis del tiempo inicial de estudio estuviesen más maduros que el resto de las muestras. Además, se observa que el índice de madurez aumenta al encontrarse la fruta en el bol del *mix* (a excepción del kiwi, donde los valores parecen mantenerse constantes). El mango experimenta un aumento muy importante, llegando incluso a triplicarse en algunos casos. La piña y la naranja también experimentan este aumento del índice de madurez, pero de manera menos pronunciada.

4.3.2. Correlación entre variables pH, TSS y TA

Para establecer si existe una relación entre la cantidad de sólidos solubles, el pH y la acidez titulable, mediante el programa estadístico Minitab®, se realiza una prueba de correlación de Pearson. El valor indicado en las casillas de la tabla son el coeficiente de correlación entre las variables (casilla superior) y el valor de p (fijado a 0,05), respectivamente. Para establecer si existe correlación, se mira si el valor de p es inferior al valor fijado, que en este caso es 0,05. A continuación se muestran, a modo de ejemplo, las correlaciones de los diversos parámetros estudiados en la

Tabla 8 para el kiwi (Tabla 10) y la naranja (

Tabla 11):

Tabla 10. Correlación de parámetros en las muestras de kiwi.

	pH	TA
TA	Corr=-0,737 p=0,000	
TSS	Corr=-0,218 p=0,247	Corr=0,120 =0,529

Tabla 11. Correlación de parámetros en las muestras de naranja.

	pH	TA
TA	Corr=-0,906 p=0,000	
TSS	Corr=-0,137 p=0,472	Corr=0,104 p=0,586

En ambos casos (Tabla 10 y

Tabla 11) se observa que existe una relación lineal entre pH y acidez titulable (ya que el valor de p es inferior a $\alpha=0,05$). En el caso de la naranja la correlación es más importante (con un valor de -0,906) mientras que en el kiwi la correlación es moderada (-0,737). La relación entre estas variables es negativa, lo que indica que a medida que el pH aumenta, la acidez titulable disminuye, tal como cabía esperar según la bibliografía anteriormente citada.

4.4. Actividad antirradicalaria

Para estos ensayos se procede tal como describen los correspondientes apartados del punto 3.3. Los resultados se expresan en forma de tabla. La primera tabla muestra los datos para las diferentes frutas en bols separados, mientras que la segunda contiene los datos para cada fruta en el bol del *mix*. Además, se ha realizado un análisis estadístico con tal de determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias para las diferentes frutas en cada tiempo. Valores seguidos de letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre las medias de cada fruta para cada tiempo.

Tabla 12. Valores de TPC (Total Polyphenol Content) (mg GAE/g muestra fresca), DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca). Todas las muestras son con una $n=5$; $p<0,05$. Misma letra en la misma columna indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las muestras.

muestra	TPC (mg GAE/g)	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$)	ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$)
kiwi					
0h	336,5 ^a \pm 21,51	297,57 ^a \pm 24,08	1032,99 ^a \pm 107,2	283,92 ^a \pm 29,40	1179,58 ^a \pm 194,57
4h	326,62 ^a \pm 15,30	254,12 ^a \pm 74,56	1059,77 ^a \pm 77,50	276,87 ^a \pm 19,46	1061,22 ^a \pm 225,15
1 día	286,81 ^b \pm 13,56	168,94 ^b \pm 58,56	1025,32 ^a \pm 57,09	264,56 ^a \pm 14,41	1143,68 ^a \pm 391,77
2 días	277,32 ^b \pm 24,85	138,04 ^b \pm 47,27	1110,95 ^a \pm 106,0	255,90 ^a \pm 12,98	1383,54 ^a \pm 449,28
4 días	297,05 ^b \pm 11,35	178,9 ^b \pm 42,01	1200,63 ^a \pm 82,80	255,58 ^a \pm 19,38	1639,46 ^b \pm 151,18
6 días	307,85 ^b \pm 29,43	276,01 ^a \pm 52,71	1161,21 ^a \pm 205,7	227,49 ^b \pm 16,83	1671,45 ^b \pm 409,86
mango					
4h	111,54 ^a \pm 7,23	269 ^a \pm 18,79	774,57 ^a \pm 48,91	169,43 ^a \pm 13,69	45,84 ^a \pm 5,10
1 día	106,81 ^a \pm 8,49	46,8 ^b \pm 26,07	710,68 ^a \pm 46,86	224,05 ^a \pm 41,02	35,68 ^b \pm 2,79
2 días	91,68 ^b \pm 21,68	61,4 ^b \pm 16,35	632,73 ^a \pm 125,7	184,43 ^a \pm 64,62	38,70 ^b \pm 6,40
4 días	92,53 ^b \pm 7,89	196 ^c \pm 75,5	646,77 ^a \pm 67,7	195,47 ^a \pm 14,23	36,63 ^b \pm 4,65
6 días	85,90 ^b \pm 9,04	173 ^c \pm 60,48	665,94 ^a \pm 69,44	208,30 ^a \pm 17,85	11,54 ^c \pm 1,45
naranja					
0h	373,19 ^a \pm 28,58	689 ^a \pm 112,24	1038,29 ^a \pm 79,15	560,25 ^a \pm 25,17	1378,61 ^a \pm 222,07
4h	402,3 ^a \pm 18,36	437 ^a \pm 110,17	1065,53 ^a \pm 128,17	564,19 ^a \pm 29,62	1562,90 ^a \pm 218,09
1 día	373,05 ^a \pm 36,17	232 ^a \pm 89,02	1034,39 ^a \pm 140,01	607,20 ^a \pm 72,21	1552,04 ^a \pm 76,66
2 días	399,23 ^a \pm 22,77	511 ^a \pm 193,21	998,27 ^a \pm 106,93	631,03 ^a \pm 57,32	1555,40 ^a \pm 272
4 días	426,44 ^b \pm 82,73	767 ^b \pm 184,43	1006,36 ^a \pm 115,87	564,92 ^a \pm 45,72	1505,88 ^a \pm 192,19
6 días	455 ^b \pm 50,67	783 ^b \pm 88,15	1038,73 ^a \pm 70,51	596,46 ^a \pm 63,07	1472,78 ^a \pm 225,86
piña					
0h	321,54 ^a \pm 33,28	335 ^a \pm 44,13	898,69 ^a \pm 48,52	619,10 ^a \pm 104,16	113,26 ^a \pm 6,96
4h	301,4 ^b \pm 28,09	280 ^a \pm 42,1	1000,54 ^a \pm 58,26	612,96 ^a \pm 69,21	109,22 ^a \pm 7,94
1 día	368,15 ^a \pm 53,53	329 ^a \pm 57,64	1115,13 ^a \pm 80,98	742,97 ^a \pm 86,78	112,67 ^a \pm 13,45
2 días	338,7 ^a \pm 19,4	324 ^a \pm 54,27	1095,21 ^a \pm 99,27	671,83 ^a \pm 57,57	120,48 ^b \pm 15,24
4 días	320,14 ^a \pm 39,39	323 ^a \pm 61,07	1053,95 ^a \pm 142,21	757,83 ^a \pm 47,41	129,87 ^b \pm 5,35
6 días	288,41 ^b \pm 16,66	379 ^a \pm 143,76	1012,81 ^a \pm 120,73	559,76 ^b \pm 69,47	130,90 ^b \pm 14,46

Tabla 13. Valores de TPC (Total Polyphenol Content) (mg GAE/g muestra fresca), DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca). Todas las muestras son con una $n=5$; $p<0,05$. Misma letra en la misma columna indica que no hay diferencias significativas entre las muestras.

	TPC (mg GAE/g)	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$)	ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$)
kiwi mix					
0h	336,5 ^a \pm 21,51	297,57 ^a \pm 24,08	1032,99 ^a \pm 107,17	283,92 ^a \pm 29,40	1179,58 ^a \pm 194,57
4h	328,3 ^a \pm 24,63	1051 ^b \pm 190,54	1020,37 ^a \pm 122,99	255,22 ^a \pm 15,49	1723,24 ^a \pm 87,28
1 día	284,8 ^a \pm 17,38	761 ^c \pm 75,05	925,34 ^a \pm 139,25	205,85 ^b \pm 16,73	1519,45 ^a \pm 408,57
2 días	301,4 ^a \pm 10,17	728 ^c \pm 159,45	1072,39 ^a \pm 43,93	235,22 ^b \pm 16,96	1686,09 ^a \pm 378,19
4 días	286,2 ^a \pm 35,01	979 ^c \pm 157,85	1007,05 ^a \pm 101,94	209,79 ^b \pm 17,47	1473,38 ^a \pm 110,06
6 días	264,5 ^b \pm 30,11	1034 ^c \pm 210,74	976,52 ^a \pm 214,00	207,76 ^b \pm 26,12	268,68 ^b \pm 69,82
mango mix					
4h	121,3 ^a \pm 16,01	834 ^a \pm 112,01	614,00 ^a \pm 117,10	298,17 ^a \pm 40,24	1034,30 ^a \pm 0,00
1 día	113,7 ^a \pm 22,67	181 ^b \pm 0,00	684,34 ^a \pm 181,08	203,97 ^a \pm 62,37	998,20 ^a \pm 142,87
2 días	131 ^a \pm 35,74	119 ^b \pm 95,41	815,62 ^a \pm 144,41	259,58 ^a \pm 111,84	1074,56 ^a \pm 163,54
4 días	92,89 ^a \pm 5,01	167 ^b \pm 70,62	682,39 ^a \pm 64,98	238,81 ^a \pm 50,29	1647,82 ^b \pm 209,91
6 días	99,44 ^a \pm 24,36	237 ^b \pm 145,77	696,40 ^a \pm 132,16	198,57 ^a \pm 59,77	1746,14 ^b \pm 216,98
naranja mix					
0h	373,2 ^a \pm 28,58	689 ^a \pm 112,24	1038,29 ^a \pm 79,15	560,25 ^a \pm 25,17	1378,61 ^a \pm 222,07
4h	336,1 ^a \pm 49,28	283 ^b \pm 150,05	964,70 ^a \pm 97,66	426,74 ^b \pm 62,24	2395,77 ^b \pm 273,47
1 día	284,1 ^a \pm 28,39	240 ^b \pm 127,99	1030,98 ^a \pm 155,74	420,78 ^b \pm 29,31	2370,48 ^b \pm 460,75
2 días	292,3 ^a \pm 44,53	286 ^b \pm 158,79	980,78 ^a \pm 120,49	455,19 ^b \pm 53,04	2517,51 ^b \pm 359,79
4 días	287,8 ^a \pm 35,32	372 ^b \pm 111,88	1009,61 ^a \pm 153,38	392,17 ^b \pm 64,67	2606,34 ^b \pm 347,05
6 días	305,1 ^a \pm 11,25	522 ^b \pm 261,59	1011,57 ^a \pm 154,80	382,82 ^b \pm 101,38	2561,30 ^b \pm 78,36
piña mix					
0h	321,5 ^a \pm 33,28	335 ^a \pm 44,13	898,69 ^a \pm 48,52	619,10 ^a \pm 104,16	113,26 ^a \pm 6,96
4h	223,2 ^b \pm 34,37	558 ^a \pm 211,11	433,81 ^b \pm 65,64	1253,32 ^b \pm 271,81	2649,20 ^b \pm 308,10
1 día	100,5 ^c \pm 65,41	511 ^a \pm 202,28	426,94 ^b \pm 75,32	981,38 ^a \pm 195,02	2866,42 ^b \pm 226,76
2 días	173,6 ^b \pm 34,59	541 ^a \pm 10,22	525,84 ^b \pm 49,96	939,56 ^a \pm 181,88	1029,35 ^c \pm 118,01
4 días	189,5 ^b \pm 18,18	71,3 ^b \pm 17,59	637,21 ^c \pm 57,93	763,80 ^a \pm 256,24	694,29 ^c \pm 394,39
6 días	200,4 ^b \pm 42,38	1248 ^c \pm 70,14	632,12 ^c \pm 70,16	887,41 ^a \pm 151,95	1228,04 ^c \pm 396,38

En este trabajo se han realizado cinco métodos de determinación de actividad antirradicalaria (TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC), debido a que no todos ellos tienen similitud como para poder extrapolar y comparar resultados.

Todas las frutas tienen una actividad antirradicalaria remarcable, y similar a la que se encuentra en la bibliografía (74). Cabría destacar la naranja, que tiene valores superiores al resto de frutas tanto si la consideramos en el bol sola como en el bol del *mix*. El mango parece ser el que tiene peores propiedades antirradicalarias, pero también muestra una mejora de estas propiedades al mezclarlo con el resto de las frutas, es decir, en el bol del *mix*.

En el análisis del contenido total de polifenoles (TPC), la naranja seguida del kiwi son las que tienen mayor cantidad de polifenoles. Cabe destacar que aparecen diferencias significativas entre la piña sola y la piña del *mix* (valores superiores en la piña sola). El mango es el que muestra valores inferiores (91-121 mg GAE/g muestra fresca).

Los resultados del contenido total de polifenoles (TPC) tanto del kiwi (Tabla 12) como del kiwi del *mix* (Tabla 13) presentan un máximo a las 0 horas con un valor de 336,5 mg GAE/g muestra fresca, valor que posteriormente va disminuyendo. Si bien hay fluctuaciones, éstas no son estadísticamente significativas tal como denota el estudio estadístico de las muestras. Por tanto, el contenido total de polifenoles en el kiwi tiende a disminuir a lo largo del tiempo. Aunque desde un punto de vista estadístico existen dos tipos de muestras con diferentes velocidades de descenso de los valores, desde un punto de vista cualitativo no son tan diferentes, sino que presentan una tendencia a la disminución. Estos resultados se repiten para todas las frutas, estando todas ellas dentro de un rango normal según la bibliografía consultada, donde los valores oscilan entre 29,3-1605,5 mg GAE/g muestra fresca (75).

El análisis DPPH muestra que la naranja tiene una capacidad antirradicalaria mayor que el resto de las frutas tanto en el bol sola como en el bol del *mix*, seguida de la piña y el kiwi que muestran unos valores similares. El mango es el que muestra valores inferiores (46,8-269 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), igual que en el análisis anterior. Todos los valores se encuentran dentro de un amplio rango, y concuerdan con los resultados obtenidos en estudios de índole similar (76), donde el rango de resultados se sitúa entre 41,95-881,5 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca.

Los valores obtenidos tanto para el kiwi como para el kiwi del *mix* muestran una tendencia a la baja (exceptuando algún punto anómalo en el kiwi del *mix*) pero también parecen mostrar mayor capacidad antioxidante en el caso del kiwi del bol del *mix*.

La naranja y la naranja del bol del *mix* muestran comportamientos diferentes. En el caso de la naranja del *mix*, el valor máximo se encuentra para el tiempo inicial del análisis, habiendo luego un descenso muy pronunciado (hasta tiene diferencias significativas) y posteriormente disminuye de manera

gradual, sin haber diferencias desde un punto de vista estadístico entre los último cinco tiempos del análisis (4 horas, 1, 2, 4 y 6 días) tal como cabía esperar según la bibliografía (77). La naranja sola, sin embargo, no muestra diferencias significativas hasta el día 4 de análisis, donde parece haber un aumento desde un punto de vista estadístico que, sin embargo, desde un punto de vista cualitativo, no es tan pronunciado.

Los resultados obtenidos tanto para la piña sola como para la piña del *mix* muestran una disminución gradual de la capacidad antioxidante (exceptuando algún punto anómalo en la piña del *mix*), aunque en la piña del *mix* esta disminución no sea significativa.

Finalmente, los resultados tanto en el mango como en el mango del *mix* muestran el máximo para el tiempo 0 de ensayo, tal como cabía esperar. El primer decremento es el más pronunciado, y posteriormente en ambos casos los valores van disminuyendo a lo largo del ensayo (exceptuando algunas fluctuaciones que, sin embargo, no son estadísticamente significativas).

En el análisis de capacidad antirradicalaria por ABTS, tanto la naranja como el kiwi muestran los valores más elevados, seguidos de la piña. Los valores inferiores vuelven a ser del mango. La mayoría de valores se encuentra dentro de un rango habitual según otros estudios (78) que han realizado el mismo tipo de análisis (alrededor de 1000 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca).

Todas las frutas muestran un comportamiento parecido (a excepción de la piña del *mix*) ya que ninguna de ellas muestra diferencias estadísticamente significativas a lo largo del tiempo de muestreo. Generalmente, la tendencia en todos los casos desde un punto de vista cualitativo es a disminuir ligeramente, a pesar de existir algunas fluctuaciones. Por ejemplo, en el caso del kiwi del bol del *mix* existe una disminución de 1032,99 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca en el primer tiempo de muestreo, hasta 976,52 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca el último día.

Cabe destacar el caso de la piña, donde parece haber una gran diferencia entre la piña sola, donde el rango de valores es mayor (898,69-1115,13 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), y la piña del *mix*, donde el rango es notablemente inferior (426,94-898,69 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca). El comportamiento en este último caso, donde después del primer decremento en los valores vuelve a haber diferencias significativas durante los últimos dos tiempos de muestreo, no es sin embargo desde un punto de vista numérico una diferencia tan remarcable, además de que la tendencia siempre es a la baja teniendo en cuenta que el valor máximo se encuentra para el tiempo inicial.

En el análisis de capacidad antirradicalria por método FRAP, destacan los valores de la piña (tanto sola como en el bol del *mix*) seguidos de la naranja. En este caso, tanto el kiwi como el mango muestran valores muy inferiores a las dos frutas anteriormente mencionadas. Todos los valores entran en el

rango habitual para este tipo de análisis, según la bibliografía consultada (79) donde los valores para este análisis oscilan entre 117,3 – 646,6 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca.

El comportamiento de la piña sola es una tendencia a la disminución, tal como cabía esperar (80). Los valores se mantienen, desde un punto de vista estadístico, constantes a lo largo del tiempo de muestreo, habiendo para el último día una disminución importante que incluso llega a ser significativamente diferente del día anterior. Los valores para la piña del *mix* se mantienen prácticamente constantes (exceptuando algún punto anómalo), con algunas fluctuaciones que, sin embargo, no son estadísticamente significativas.

El análisis de la naranja muestra que, a pesar de haber fluctuaciones a lo largo del tiempo de estudio, éstas no son significativamente distintas. La naranja del bol del *mix* muestra un comportamiento más parecido a lo que cabía esperar (tal como se ha comentado en el caso de la piña), donde el valor máximo se encuentra para el tiempo 0 del estudio, y posteriormente hay un decremento significativo de los valores, que después se mantiene constante según el estudio estadístico. Desde un punto de vista cualitativo se observa claramente una tendencia a la baja, llegando al valor mínimo el último día de estudio.

El análisis en el caso tanto del kiwi como del kiwi en el bol del *mix*, muestra un comportamiento parecido en ambos casos (una disminución de la capacidad antirradicalaria a lo largo del tiempo de muestreo). Sin embargo, según el estudio estadístico, la velocidad de disminución de la capacidad antioxidante es mayor en el caso del kiwi *mix* (donde el decremento significativo se produce el día 1 de ensayo) que en el kiwi sólo (donde este decremento ocurre el último día del estudio).

Tanto en el mango como en el mango del bol del *mix*, a pesar de existir fluctuaciones a lo largo del tiempo de estudio, no hay diferencias estadísticamente significativas. En ambos casos los valores fluctúan en rangos parecidos, aunque parecen ser ligeramente mayores en el caso del mango que se encuentra en el bol del *mix* (169,43-224,95 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca en el caso del mango solo y 198,57-298,17 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca en el caso del mango del bol del *mix*).

Para el análisis ORAC los valores más elevados son de la naranja (tanto sola como en el bol del *mix*) seguida del kiwi. Estos valores entran en el rango habitual para este tipo de análisis, ya que según bibliografía consultada, los valores oscilan entre 2873,1-9143,6 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca (81). El mango y la piña son los que muestran peores propiedades antirradicalarias. A pesar de que pueda parecer que los valores son demasiado bajos, estos también entran dentro del rango habitual según la bibliografía, donde los valores en este caso oscilaban alrededor de los 20,18 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca (82). Sin embargo, ambos denotan una gran diferencia al ver los resultados del bol del *mix*, donde estos valores se igualan e incluso superan los de la naranja.

Los resultados obtenidos para los ensayos con la naranja no muestran diferencias significativas a lo largo del tiempo de muestreo, es más desde un punto de vista cualitativo tampoco existen grandes diferencias entre los valores obtenidos, sin embargo se encuentran dentro del rango normal de valores según la bibliografía (83). Lo mismo ocurre con la naranja del *mix*, donde los valores entre las 4 horas y el último día de muestreo no denotan diferencias, ni estadística ni cualitativamente.

El caso de la piña es uno de los destacables de este ensayo, ya en ambos casos parece haber un aumento de la actividad antioxidante de la fruta. Este incremento, en la piña sola es estadísticamente significativo, pero desde un punto de vista numérico no es una diferencia tan importante. La piña del bol del *mix* muestra unos valores mucho más altos que la piña sola durante los primeros tiempos de muestreo que posteriormente disminuyen significativamente, pero sin llegar nunca a valores tan bajos como en la piña sola.

Ocurre algo parecido en el ensayo del mango, ya que en el mango sólo el comportamiento es el habitual, un decremento progresivo de la capacidad antioxidante hasta llegar al mínimo el último día de ensayo en un rango (11,54-45,84 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra fresca), mientras que el mango del bol del *mix* muestra valores 10 veces mayores que el mango sólo, fluctuando los valores en un rango mucho mayor (998,2-1746,14 $\mu\text{mol/g}$ muestra fresca). Esto puede ser debido a una mejora de las propiedades antioxidantes del mango al estar en contacto con otras frutas.

4.4.1. Diferencia entre métodos

Con tal de determinar si existe una correlación entre los diversos métodos de análisis antirradicalario, se procede a enfrentar los resultados obtenidos para todos ellos.

Para ello, se emplea el programa Minitab®. Se cogen los valores medios de cada tiempo para cada método y, mediante el método de correlación de Pearson, con una $p < 0,05$, se puede ver si existe correlación entre los diferentes métodos.

Aquellos casos en que el valor p sea inferior a 0,05 indican que existe una posible correlación entre métodos.

Las correlaciones que más a menudo se han dado en los análisis de actividad radicalaria son TPC/DPPH; TPC/ABTS y FRAP/TPC. Seguidamente se encuentran ABTS/DPPH y ORAC/ABTS. También se han encontrado algunas correlaciones entre ORAC/TPC; FRAP/DPPH; FRAP/ABTS y FRAP/ORAC.

Para ver las tablas con los datos de correlaciones extraídos del programa, ir al Anexo 1.

Los valores de p indican que no hay correlación entre los ensayos realizados en la piña.

4.5. Vitamina C

Para realizar este ensayo se procede tal como se ha descrito en el apartado 0. Los resultados se expresan en forma de tabla. Además, se ha realizado un análisis estadístico con tal de determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias para las diferentes frutas en cada tiempo. Valores seguidos de letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre las medias de cada fruta para cada tiempo.

Tabla 14. Resultados análisis de vitamina C en unidades $\mu\text{mol/g}$ muestra fresca

muestra	Vitamina C			
	kiwi		kiwi mix	
0h	2509,40 ^{a±}	105,09	2509,40 ^{a±}	105,09
4h	3648,13 ^{a±}	1124,7	2349,24 ^{a±}	287,57
1 día	2801,30 ^{a±}	423,44	1373,25 ^{a±}	361,57
2 días	3865,99 ^{a±}	848,36	1170,42 ^{a±}	1325,82
4 días	3620,49 ^{a±}	438,23	2510,91 ^{a±}	186,37
6 días	4224,08 ^{a±}	830,43	2370,93 ^{a±}	59,87
	mango		mango mix	
4h	3388,65 ^{a±}	394,26	3338,33 ^{a±}	789,61
1 día	3728,19 ^{a±}	674,6	2998,18 ^{a±}	179,96
2 días	3150,64 ^{a±}	26,1	3039,55 ^{a±}	632,56
4 días	490,06 ^{b±}	191,03	3452,77 ^{a±}	366,2
6 días	608,25 ^{b±}	80,18	3817,38 ^{a±}	91,27
	naranja		naranja mix	
0h	1462,71 ^{a±}	344,25	1462,71 ^{a±}	344,25
4h	1486,05 ^{a±}	670,17	2975,04 ^{b±}	207,1
1 día	1752,93 ^{a±}	431,61	3533,21 ^{b±}	1033,4
2 días	68,03 ^{b±}	12,701	4715,35 ^{b±}	44,079
4 días	806,55 ^{b±}	664,39	3550,87 ^{b±}	1248,2
6 días	1082,64 ^{b±}	21,975	2361,36 ^{a±}	38,559
	piña		piña mix	
0h	2437,51 ^{a±}	159,14	2437,51 ^{a±}	159,14
4h	2901,14 ^{a±}	400,8	2311,94 ^{a±}	1396,9
1 día	3337,60 ^{a±}	255,05	3420,23 ^{a±}	784,09
2 días	3631,61 ^{a±}	293,48	4185,38 ^{a±}	559,6
4 días	3489,75 ^{a±}	987,83	2813,87 ^{a±}	406,84
6 días	966,94 ^{b±}	256,75	2357,81 ^{a±}	825,83

Tal como se ha comentado en el apartado 1.4, la cantidad de vitamina C es un parámetro muy utilizado para el estudio de la pérdida de calidad de la fruta durante su conservación, y es habitual que la cantidad de este compuesto en la fruta disminuya a lo largo del tiempo.

En la Tabla 14 se muestran los resultados obtenidos para el análisis de Vitamina C (o ácido ascórbico). En el caso tanto del kiwi como del kiwi del bol del *mix*, a pesar de existir fluctuaciones, el estudio estadístico demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas a lo largo del tiempo de muestreo. Por tanto, las variaciones observadas, son fruto del propio método. Si parece haber diferencias entre el kiwi solo y el del *mix*, ya que los valores, *a priori*, parecen ser más bajos en el caso del *mix*.

Lo mismo ocurre en el caso de la piña del *mix* y el mango del bol del *mix*, donde las medias se mantienen estadísticamente constantes a lo largo del tiempo. A pesar de que esto parezca contradecir lo explicado en el apartado 1.4, no es de extrañar, ya que estudios similares han obtenido también pocas fluctuaciones de la evolución de la cantidad de vitamina C en fruta, a lo largo de un tiempo de 6 días (84).

Para el mango, la naranja y la piña se han obtenido resultados acordes a lo esperado, ya que en todos ellos existe una disminución estadísticamente significativa del contenido de vitamina C en las muestras (85).

Desde un punto de vista global, los resultados denotan, en algunos casos, diferencias entre la fruta sola y la fruta del bol del *mix*. Por ejemplo, la piña sola muestra una disminución significativa de la cantidad de vitamina C el último día del ensayo, mientras que en la piña del bol del *mix* no se aprecia todavía tal disminución.

4.6. Análisis microbiológico

A continuación, se muestran las tablas con los resultados obtenidos para cada fruta y para el bol del *mix* con agar PCA (*Plate Count Agar*). En todos los casos, el control de Agar y Ringer ha salido negativo. Este agar se utiliza para la enumeración de bacterias aeróbicas y anaeróbicas.

Tabla 15. Recuento bacterias aeróbicas y anaeróbicas en unidades UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias/mL de muestra).

Fruta	Tiempo	UFC/mL
kiwi	0h	7,8 x 10 ²
	4h	11 x 10 ²
	1 día	< 10 ²
	2 días	3,4 x 10 ²
	4 días	0,6 x 10 ²
	6 días	33,4 x 10 ²
mango	4h	22,8 x 10 ²
	1 día	4,6 x 10 ²
	2 días	11 x 10 ²
	4 días	33 x 10 ²
	6 días	7,3 x 10 ²
naranja	0h	8,8 x 10 ²
	4h	41 x 10 ²
	1 día	0,8 x 10 ²
	2 días	15,4 x 10 ²
	4 días	3 x 10 ²
	6 días	8,8 x 10 ²
piña	0h	47 x 10 ²
	4h	84,3 x 10 ²
	1 día	> 300 x 10 ²
	2 días	> 300 x 10 ²
	4 días	> 300 x 10 ²
	6 días	> 300 x 10 ²
mix	4h	12,6 x 10 ²
	1 día	> 300 x 10 ²
	2 días	> 300 x 10 ²
	4 días	> 300 x 10 ²
	6 días	> 300 x 10 ²

En la siguiente tabla se muestran los resultados con Agar TSA, que permite el crecimiento de hongos y levaduras.

Tabla 16. Recuento de hongos y levaduras en unidades UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias/mL).

Fruta	Tiempo	UFC/mL
kiwi	0h	20,6 x 10 ²
	4h	3,2 x 10 ²
	1 día	5,4 x 10 ²
	2 días	4,6 x 10 ²
	4 días	16,2 x 10 ²
	6 días	30,3 x 10 ²
mango	4h	27 x 10 ²
	1 día	5,8 x 10 ²
	2 días	11,8 x 10 ²
	4 días	4,6 x 10 ²
	6 días	100,3 x 10 ²
naranja	0h	7,2 x 10 ²
	4h	47 x 10 ²
	1 día	4 x 10 ²
	2 días	23,2 x 10 ²
	4 días	8 x 10 ²
	6 días	10 x 10 ²
piña	0h	28 x 10 ²
	4h	77,4 x 10 ²
	1 día	> 300 x 10 ²
	2 días	> 300 x 10 ²
	4 días	> 300 x 10 ²
	6 días	> 300 x 10 ²
mix	4h	11,8 x 10 ²
	1 día	> 300 x 10 ²
	2 días	> 300 x 10 ²
	4 días	> 300 x 10 ²
	6 días	> 300 x 10 ²

La actividad microbiológica de la fruta puede afectar a los parámetros de calidad de los alimentos, y convertirlos en no consumibles (86). El análisis microbiológico se realiza como control, para ver si es posible que esto afecte a posibles resultados anómalos de otros análisis. La flora microbacteriana de la fruta incluye bacterias, hongos y levaduras. La carga natural de microbios depende mucho del tipo de fruta, ambiente, estación y otras condiciones bajo las cuales crecen los vegetales. Las posibles

causas de contaminación de fruta cortada, además, son muy extensas, e incluyen la presencia de superficies cortantes, humedad. Además, no se puede asegurar que las condiciones en que se procesan estos alimentos sean totalmente estériles, y el propio envase donde se almacena puede no ser estéril y afectar a la actividad bacteriana de ésta.

Se han observado grandes diferencias en los recuentos para diferentes tipos de vegetales. Esto ha sido atribuido a diversos factores, como las condiciones ambientales durante la cosecha, el proceso manual de recogida del fruto, y la variabilidad natural de los productos biológicos (87).

La gran variabilidad entre las mismas frutas no es de extrañar, ya que la alta actividad microbacteriana es inherente a la propia fruta. Se puede observar, sin embargo, que en todos los casos (tanto PCA, para el recuento de bacterias aeróbicas y anaeróbicas, como TSA, para el recuento de hongos y levaduras) la piña ha dado en 48 horas resultados incontables, es decir, con más de 300 colonias por placa. Esto indica que para el análisis de la piña debería haberse realizado una dilución más elevada. Además, debido a la alta actividad microbacteriana de la piña, se han obtenido también resultados incontables en las placas del *mix*. Como resultado, es posible que alguno de los resultados de la piña o del bol del *mix* en general, se vea afectado por la actividad microbacteriana de la piña.

En el Anexo II – Seguimiento de la evolución de la actividad microbacteriana, se muestran las imágenes de las placas obtenidos durante el análisis.

5. Análisis del impacto ambiental

Los productos químicos tienen un impacto importante en el medio ambiente, participando en el desarrollo de fenómenos perjudiciales para el planeta como el cambio climático, la destrucción de la flora y la fauna y la contaminación de agua potable. Asimismo, un aumento de la durabilidad de la fruta daría lugar a una disminución de los residuos generados por desechar alimentos en mal estado, por lo que ayudaría a disminuir el impacto ambiental de este tipo de industria.

Si bien al tratarse de un proyecto relacionado con la alimentación, no se generan muchos residuos derivados de la utilización de las muestras problema, si que se han utilizado algunos reactivos que son perjudiciales para el medio ambiente o tóxicos para los organismos vivos. Para establecer el impacto ambiental derivado del proyecto, a continuación, se detallan los diferentes tipos de residuos generados que pueden tener un impacto negativo en el medio ambiente y en organismos vivos.

Existe una clasificación de los residuos generados en un laboratorio que tiene en cuenta que no todos los residuos tóxicos y peligrosos tienen las mismas propiedades fisicoquímicas y que, por tanto, se pueden generar incompatibilidades. A lo largo del proyecto se ha tenido especial cuidado en la clasificación de los diferentes residuos generados.

- GRUPO I: Disolventes halogenado. Son líquidos orgánicos, muy tóxicos, irritantes y, en algún caso, cancerígenos, con unos contenidos superiores al 2% de algún halógeno. También se incluyen las mezclas de disolventes halogenados y no halogenados siempre que el contenido en halógenos de la mezcla sea superior al 2%.
- GRUPO II: Disolventes no halogenados. Son líquidos orgánicos inflamables y tóxicos que contienen menos de un 2% en halógenos. Es imprescindible evitar las mezclas de disolventes inmiscibles, ya que la aparición de diferentes fases dificulta el tratamiento posterior.
- GRUPO III: Disoluciones acuosas. Son soluciones acuosas de productos orgánicos e inorgánicos. Es un grupo muy amplio, por lo que es necesario establecer subdivisiones, ya sea para evitar incompatibilidades como por requerimiento de un tratamiento posterior diferente:
 - o Disoluciones acuosas inorgánicas: que incluye disoluciones acuosas básicas, soluciones acuosas de metales pesados y soluciones acuosas de cromo hexavalente (VI).
 - o Disoluciones acuosas inorgánicas o de alta demanda química de oxígeno: que incluye disoluciones acuosas de colorantes, disoluciones de fijadores orgánicos y mezclas de agua/disolvente.
- GRUPO IV: ácidos. Este grupo abarca todos los ácidos inorgánicos y sus soluciones acuosas concentradas con más del 10% en volumen. Hay que prestar especial atención ya que la mezcla de algunos de estos ácidos (dependiendo de su composición y concentración) pueden producir

alguna reacción química peligrosa con desprendimiento de gases tóxicos e incremento de la temperatura.

- GRUPO V: aceites. Abarca aceites minerales derivados de operaciones de mantenimiento, baños calefactores, etc.
- GRUPO VI: sólidos. Productos químicos en estado sólido, ya sea de naturaleza orgánica e inorgánica (que no deben mezclarse entre sí), y material desechable contaminado con productos químicos. Dentro de este grupo se establecen los siguientes subgrupos:
 - Sólidos orgánicos: productos químicos de naturaleza orgánica o contaminados con productos químicos orgánicos.
 - Sólidos inorgánicos: productos químicos de naturaleza inorgánica.
 - Material desechable contaminado: material contaminado con diversos productos químicos.
- GRUPO VII: Productos especiales. Este grupo engloba cualquier tipo de producto que debido a su alta toxicidad o peligrosidad no puede ser incluido en ninguno de los grupos mencionados. Este tipo de residuo no puede mezclarse entre sí ni con residuos de otros grupos. Se establecen los siguientes subgrupos:
 - Comburentes: peróxidos.
 - Compuestos pirofóricos: magnesio metálico en polvo.
 - Compuestos muy reactivos: ácidos fumantes, metales alcalinos, hidruros, compuestos peroxidables, restos de reacción, productos no etiquetados, compuestos con halógenos activos, compuestos polimerizables.
 - Compuestos muy tóxicos: tetraóxido de osmio, mezcla crómica, cianuros, sulfuros, etc.
 - Compuestos no identificados.
- GRUPO: Vidrio contaminado. Material de vidrio contaminado con restos de productos químicos en el que hay que incluir botellas de vidrio vacías cerradas y con restos de productos químicos.
- GRUPO: Biopeligrosos. Son productos asimilables a residuos de origen sanitario. Incluye: cultivos microbiológicos, residuos de animales infecciosos, residuos anatómicos, sangre y hemoderivados en forma líquida, y agujas, hojas de bisturí y material punzante y/o cortante, material de vidrio contaminado o roto.
- GRUPO: Citostáticos. Se incluyen los productos líquidos y sólidos cancerígenos, mutagénicos o teratogénicos, al igual que el material de un solo uso contaminado u otros productos muy tóxicos.

Para los residuos de los grupos I a VII se deben emplear envases homologados para el transporte de mercancías peligrosas. Generalmente se utilizan garrafas de polietileno de alta densidad, que son resistentes a la mayoría de los productos químicos. Las sustancias cancerígenas se deben recoger en envases de polietileno con tapa homologada para este tipo de producto. Los productos citostáticos líquidos no se deben almacenar directamente en esta clase de envase, sino que se depositan en un envase que cierre perfectamente y se colocan dentro del envase de citostáticos.

Todo envase de residuos debe estar correctamente etiquetado. La etiqueta debe contener el nombre del residuo que contiene (indicando, siempre que sea posible, la composición en caso de mezcla de componentes). La función de la etiqueta es una identificación rápida del residuo, así como de los riesgos que lleva asociados. Por eso, para los residuos de los grupos I al VII, se hace uso de unas etiquetas estipuladas con diferentes colores, los cuales varían en función del grupo al que pertenecen los residuos peligrosos: grupo I (naranja), grupo II (verde), grupo III (azul), grupo IV (rojo), grupo V (marrón), grupo VI (amarillo) y grupo VII (lila).

Las etiquetas deben llevar siempre los pictogramas de seguridad que les corresponda. Éstos se pueden encontrar en la Tabla 17.

Tabla 17. Pictogramas de seguridad.

	Explosivo	Alerta de que el producto puede explotar en contacto con una llama, chispa, electricidad estática, bajo efecto de calor, choques, fricción, etc.
	Líquidos inflamables	El producto comienza a arder de forma muy fácil, incluso por debajo de 0°C al contacto con una fuente de ignición (llama, chispa, electricidad estática, etc.) por calor o fricción, al contacto con el aire o agua, o si se liberan gases inflamables.
	Líquidos comburentes	En este pictograma, a diferencia del anterior, la llama está encima del círculo. Esto indica que es un producto comburente, es decir, que puede provocar o agravar un incendio o una explosión en presencia de productos combustibles.
	Corrosión	Este tipo de producto químico es corrosivo y puede atacar o destruir metales y causar daños irreversibles en la piel, ojos y otros tejidos vivos, en caso de contacto o proyección.

	Gases comprimidos	Gases a presión en un recipiente. Algunos pueden explotar en contacto con el calor, son gases comprimidos, licuados o disueltos. Los licuados refrigerados pueden producir quemaduras o heridas relacionadas con el frío.
	Toxicidad aguda	Advierte de que el producto genera efectos adversos para la salud, incluso en pequeñas dosis y con consecuencias inmediatas. Al entrar en contacto con el mismo se pueden sentir náuseas, vómitos, dolores de cabeza, pérdida de conocimiento. En un caso extremo, puede causar la muerte.
	Irritación cutánea	Advierte de los efectos que puede provocar el producto en altas dosis. Puede producir irritación en ojos, garganta, nariz y piel. Además, puede provocar alergias cutáneas, somnolencia o vértigo.
	Peligroso por aspiración	Se trata de productos que pueden llegar al organismo por inhalación y causar efectos negativos muy diversos y graves a largo plazo. Estos efectos pueden ser cancerígenos, mutagénicos, tóxicos para la reproducción, provocar infertilidad, la muerte del feto o malformaciones, modificar el comportamiento de ciertos órganos y entrañar graves efectos sobre los pulmones, entre otros.
	Peligroso para el medio ambiente	Indica que el producto provoca efectos negativos para organismos del medio acuático (peces, crustáceos, algas, otras plantas acuáticas, etc.).

A continuación, se enumeran algunas medidas de prevención de riesgos durante la manipulación y/o transporte de residuos.

- En caso de desconocer las propiedades y características del producto a trasladar, al manipular los envases se debe aplicar el máximo nivel de protección.

- Procurar manipular los residuos bajo la supervisión de un responsable de laboratorio.
- El transporte de envases de residuos debe realizarse, siempre que sea posible, mediante medios mecánicos de carga. Si estos están motorizados, la energía utilizada debe ser eléctrica. El espacio donde se depositen los envases para su transporte debe estar completamente ventilado y aislado de cualquier posible foco de ignición.
- Queda terminantemente prohibido fumar y/o comer durante la manipulación y transporte de residuos.
- Para residuos líquidos, se debe procurar no utilizar envases con capacidad superior a 30 litros para facilitar su manipulación y evitar riesgos innecesarios.
- El vertido de residuos a los envases correspondientes se debe efectuar de manera lenta y controlada. Esta operación puede ser interrumpida si se observa cualquier fenómeno anormal. Para transvasar grandes cantidades de líquidos, se debe utilizar una bomba preferentemente de accionamiento manual. En caso de utilizar una bomba eléctrica, esta debe ser antideflagrante. En todos los casos se debe comprobar la idoneidad del material de la bomba con el residuo correspondiente, ya que determinados compuestos como el plástico pueden deteriorarse al entrar en contacto con estas sustancias peligrosas.
- Los envases nunca deben llenarse por encima del 90% de su capacidad para evitar salpicaduras, derrames y sobrepresiones.
- Los envases deben depositarse en el suelo, siempre que sea posible, para prevenir posibles caídas.
- Se debe evitar el contacto directo con productos químicos. Durante todo el proceso de transporte y manipulación, se deben usar guantes, protección ocular y calzado de seguridad.

Es importante tener en cuenta todos los aspectos comentados, ya que una buena gestión de residuos es crucial para asegurar la conservación del medio ambiente.

Conclusiones

La fruta juega un rol importante en una alimentación sana y es una de las prioridades en la alimentación del consumidor. Actualmente el consumidor da más importancia a la calidad del producto consumido, y por tanto, es importante conservar todas las características el máximo tiempo posible. Además, en este momento uno de los mayores problemas de la sociedad es el desaprovechamiento de recursos, como la fruta, de la que se desperdicia casi un 50%. Así pues, una mejora de las propiedades de fruta *Ready to eat* mejoraría tanto la calidad de vida del consumidor como aumentaría el aprovechamiento de los recursos, y disminuiría el impacto ambiental.

En vista de los análisis realizados, se puede concluir que:

- No hay diferencia de la pérdida de agua entre la fruta sola y la fruta del bol del *mix*.
- La tasa de respiración parece aumentar al encontrarse la fruta en el bol del *mix*, aumentando la cantidad de CO₂ y disminuyendo la de O₂.
- La evolución de la firmeza a lo largo del tiempo de muestreo no muestra diferencias remarcables entre la fruta sola y la del *mix*.
- El pH se mantiene aproximadamente constante (oscila en un rango muy pequeño) sin observarse diferencias claras entre las frutas solas y las del *mix*. El mantenimiento del pH a niveles constantes es un buen indicador de la calidad de la fruta de IV gama. Los TSS muestran un comportamiento parecido, ya que, a pesar de haber fluctuaciones, todos los valores se encuentran en un rango muy pequeño.

El comportamiento de la acidez titulable es el habitual, un descenso de ésta a medida que aumenta el tiempo de conservación. Sin embargo, la velocidad de descenso de TA es mayor en la naranja y piña del *mix* que en éstas fruta solas.

El índice de madurez, calculado a partir de TA y TSS, parece indicar que, mientras el kiwi se mantiene bien conservado a lo largo del tiempo de muestreo (tanto sólo como en el *mix*), el resto de las frutas parecen degradarse más deprisa al encontrarse mezcladas.

- De entre todas las frutas, la naranja es (desde un punto de vista global) es la que tiene mejores propiedades antirradicalarias. El mango, por el contrario, es el que tiene peores propiedades antioxidantes, pero a la vez parece mostrar una mejora de éstas al encontrarse mezclado con el resto de las frutas.

- Respecto a los Polifenoles Totales (TPC), la naranja y el kiwi son los que muestran mayor cantidad. Existen diferencias importantes entre la piña sola y la del *mix* (siendo superiores los valores en la piña sola). El mango es el que fluctúa en un rango de valores más bajo.
- En el análisis DPPH, la naranja, tanto sola como en el *mix*, tiene una capacidad antirradicalaria mayor que el resto de las frutas, seguida del kiwi y la piña. Los valores inferiores se han obtenido para el mango. Cabe destacar que, en este caso, el kiwi del bol del *mix* parece experimentar una mejora de la capacidad antioxidante respecto al kiwi solo.
- En el análisis de capacidad antirradicalaria por ABTS, tanto la naranja como el kiwi muestran los valores más elevados, seguidos de la piña. El mango es, otra vez, el que tiene los valores inferiores. En este caso, la piña parece tener unas mejores propiedades antirradicalarias al encontrarse sola que en el *mix*.
- En el FRAP destacan los valores superiores de la piña (tanto sola como en *mix*) seguidos de la naranja. Tanto el kiwi como el mango muestran rangos de valores inferiores. La velocidad de disminución de la capacidad antioxidante es mayor en el kiwi del *mix* que en el kiwi solo. Sin embargo, no se observan diferencias entre el mango y el mango del *mix*.
- Para el último de los análisis de capacidad antirradicalaria, ORAC, la naranja (tanto sola como en *mix*) muestra los valores superiores, seguida del kiwi. En este caso, los valores más bajos se han obtenido para el mango y la piña solos. Sin embargo, es destacable el comportamiento de éstas últimas ya que, en ambos casos, hay una mejora importante de las propiedades antirradicalarias al encontrarse la fruta mezclada.
- La vitamina C tiene valores similares en todas las frutas. Existen diferencias significativas en algunos casos, por ejemplo, la vitamina C en el kiwi envasado aislado es ligeramente superior a la encontrada en el del *mix*. Por otra parte, la piña sola muestra una disminución significativa de la cantidad de vitamina C el último día de ensayo, mientras que en el bol del *mix* esta disminución no se aprecia.
- La contaminación microbiana de las muestras es baja, a excepción de la piña que presenta número elevado tanto de hongos y levaduras como de bacterias.

El aumento de la durabilidad de los alimentos es un reto para la sociedad, que cada vez está más concienciada de la necesidad de reducir el impacto ambiental en el planeta a la vez que se aprovechan al máximo los recursos. Es interesante investigar la posibilidad de aumentar la duración de este tipo de recursos con algo tan simple como la mezcla adecuada de fruta. Visto que se han observado diferencias significativas entre las frutas sola y las del *mix*, esta vía de desarrollo para la mejora de la durabilidad de la fruta tiene potencial y debería ser investigada en mayor profundidad en el futuro.

6. Análisis económico y planificación del proyecto

Para el análisis económico del proyecto se tienen en cuenta los diversos gastos derivados de la realización de éste, que principalmente se subdividen en: coste de las muestras, coste del material de laboratorio, coste de los reactivos, coste de los equipos utilizados y coste del personal.

6.1. Coste de las muestras

Las muestras utilizadas son las frutas que se han analizado a lo largo del trabajo. Los precios corresponden al año 2018 y pueden variar debido a la oscilación del precio de mercado.

Tabla 18. Coste de la fruta utilizada para la realización del proyecto.

Fruta	€/kg	kg utilizados	Importe (€)
Kiwi	3	6,5	19,5
Mango	4,5	6	27
Naranja	1,6	8	12,8
Piña	4,25	8	34
TOTAL			93,3 €

6.2. Coste material de laboratorio

Para el cálculo del coste de material de laboratorio se ha tenido en cuenta la cantidad de cada material que ha sido utilizado.

Tabla 19. Coste del material de laboratorio utilizado para la realización del proyecto.

Material	Marca	Uds.	Precio	Precio unitario	Uds. utilizadas	Importe
Bata de laboratorio	Labbox	1	20,0	20,00 €	1	20,00 €
Bols plástico	Nostrum	150	16,0	0,11 €	180	19,20 €
Bolsas zip plástico	Bosque Verde	30	3,5	0,12 €	60	7,00 €
Botella de vidrio ámbar (150 mL)	Labbox	60	17,7	0,30 €	8	2,36 €
Botella de vidrio ámbar (60 mL)	Labbox	160	31,3	0,20 €	8	1,57 €

Bureta (25 mL)	Labbox	1	12,5	12,50 €	1	12,50 €
Cajas porexpan	Materials World	1	5,0	5,00 €	1	5,00 €
Cinta indicadora de esterilización	Labbox	1	3,9	3,93 €	1	3,93 €
Cuchillos	EVO	1	16,0	16,00 €	2	32,00 €
Depósito para reactivos	Labbox	10	1,9	0,19 €	9	1,74 €
Eppendorf (1,5 mL)	Labbox	500	4,0	0,01 €	250	2,00 €
Eppendorf (2 mL)	Labbox	500	4,6	0,01 €	250	2,30 €
Espátula	Labbox	5	4,7	0,94 €	1	0,94 €
Film transparente (30 m)	Bosque Verde	1	1,6	1,58 €	2	3,16 €
Frascos ámbar (60 mL)	Labbox	160	31,3	0,20 €	3	0,59 €
Gafas	Labbox	1	12,0	12,00 €	1	12,00 €
Gradillas	Labbox	1	13,8	13,81 €	3	41,43 €
Guantes desechables	Labbox	100	7,0	0,07 €	200	14,00 €
Lámpara de alcohol	Labbox	1	3,3	3,25 €	1	3,25 €
Mascarillas desechables	Labbox	100	2,1	0,02 €	10	0,21 €
Matraz aforado (10mL)	Labbox	2	4,8	2,40 €	1	2,40 €
Matraz aforado (25mL)	Labbox	2	5,0	2,50 €	1	2,50 €
Matraz aforado (500mL)	Labbox	2	7,6	3,80 €	1	3,80 €
Matraz aforado (50mL)	Labbox	2	5,5	2,75 €	1	2,75 €
Matraz aforado (5mL)	Labbox	2	4,2	2,10 €	1	2,10 €
Matraz Erlenmeyer (250 mL)	Labbox	12	18,2	1,52 €	10	15,18 €
Microplacas 96 pocillos blancas	Corning	100	394,8	3,95 €	32	126,34 €

Microplacas 96 pocillos negras	Corning	100	439,0	4,39 €	8	35,12 €
Mortero	Labbox	1	4,2	4,19 €	2	8,38 €
Papel de aluminio (30 m)	Labbox	1	2,6	2,60 €	5	13,00 €
Papel de filtro	Labbox	500	65,5	0,13 €	25	3,28 €
Pipeta Pasteur (5 mL)	Labbox	500	8,9	0,02 €	10	0,18 €
Placas Petri (90 mm diámetro)	Labbox	500	60,1	0,12 €	60	7,21 €
Porta-ependorf	Labbox	10	14,0	1,40 €	5	7,00 €
Probeta graduada (100 mL)	Labbox	1	4,2	4,20 €	1	4,20 €
Probeta graduada (5 mL)	Labbox	1	2,4	2,37 €	1	2,37 €
Puntas pipeta desechables amarillas (20 a 200 µL)	Labbox	1000	4,2	0,00 €	1300	5,49 €
Puntas pipeta desechables azules (100 a 1000 µL)	Labbox	1000	6,3	0,01 €	1000	6,27 €
Puntas pipetas desechables (0,5 a 5 mL)	Labbox	250	13,0	0,05 €	10	0,52 €
Rotulador permanente	Staedtler	1	1,5	1,50 €	3	4,50 €
Soporte	Labbox	1	8,8	8,80 €	1	8,80 €
Tijeras	Staedtler	1	2,3	2,25 €	2	4,50 €
Tubos de ensayo con tapón de rosca autoclavable (10 mL)	Labbox	250	81,3	0,33 €	60	19,52 €
Varilla Digrafsky	Vidrafoc	1	15,9	15,91 €	1	15,91 €
Varilla magnética	Labbox	5	11,1	2,22 €	1	2,22 €
Vasos autoclavables tapa azul (250 mL)	Labbox	10	24,3	2,43 €	12	29,15 €

Vasos de precipitados (10 mL)	Labbox	12	7,0	0,58 €	3	1,75 €
Vasos de precipitados (25 mL)	Labbox	12	9,0	0,75 €	3	2,25 €
Vasos de precipitados (50 mL)	Labbox	12	13,0	1,08 €	3	3,25 €
Vasos tapón roscado azul (250 mL)	Labbox	10	24,3	2,43 €	15	36,44 €
Frasco roscado de polipropileno para muestras (25 mL)	Labbox	1000	115,9	0,12 €	200	23,18 €
TOTAL						584,70 €

6.3. Coste de los reactivos

Se han tenido en cuenta todos los reactivos empleados durante los ensayos, así como el uso de nitrógeno líquido para transportar y conservar algunas de las muestras.

Tabla 20. Coste de los reactivos utilizados durante los análisis.

Reactivo	Marca	Característica recipiente		Precio unitario	Cantidad utilizada	Precio
AAPH	Sigma-Aldrich	25	g	37,25 €	5	7,45 €
ABTS	Sigma-Aldrich	2	g	77,50 €	0	7,75 €
Acetato de sodio 3-hidrato	Sigma-Aldrich	1000	g	39,20 €	3	0,12 €
Ácido acético glacial	Sigma-Aldrich	1000	mL	48,80 €	8	0,39 €
Ácido clorhídrico 37%	Sigma-Aldrich	2500	mL	47,80 €	2	0,04 €
Ácido metafosfórico	Merck	500	g	256,00 €	2	1,02 €
Carbonato de sodio anhidro	Panreac	1000	g	44,07 €	20	0,88 €
Cloruro de hierro (III) hexahidratado	Sigma-Aldrich	50	g	12,50 €	0	0,05 €
DPPH	Sigma-Aldrich	5	g	243,00 €	0	2,43 €
DTPA	Alfa Aesar	1000	g	92,90 €	13	1,21 €
Etanol	Panreac	5000	mL	48,80 €	1000	9,76 €

Fluorisceína	Sigma-Aldrich	50	g	12,50 €	0	0,10 €
Fosfato dipotásico 100 mM	Panreac	1000	g	106,00 €	20	2,12 €
Metanol	Panreac	5000	mL	58,29 €	1000	11,66 €
PCA	OXOID	500	g	106,00 €	200	42,40 €
Reactivo Folin-Coicalteu	Sigma-Aldrich	100	mL	36,75 €	10	3,68 €
Ringer	OXOID	100	tabletas	27,75 €	20	5,55 €
Tampón fosfato salino (PBS)	Sigma-Aldrich	100	tabletas	141,00 €	10	14,10 €
TPTZ	Sigma-Aldrich	1	g	26,10 €	0	10,44 €
Trolox	Sigma-Aldrich	1	g	47,60 €	0	4,76 €
TSA	OXOID	500	g	152,00 €	200	60,80 €
TOTAL						186,70 €

6.4. Coste de los equipos

Se incluyen todos los equipos necesarios para la realización de los análisis, teniendo en cuenta la amortización y la cantidad de personas que comparten el equipo.

Equipo	Marca	Precio	Vida útil (años)	Tiempo de uso (meses)	Nº Operarios	Amortización
Agitador "Vortex"	SBS	220 €	5	4	5	2,93 €
Agitador magnético	SBS	250 €	5	4	5	3,33 €
Agitador Ultra turrax	IKA	800 €	7	4	5	7,62 €
Autoclave	Prestige Medical	745 €	8	4	5	6,21 €
Balanza analítica	OHAUS	1.010 €	6	5	8	8,77 €
Baño calefactor	P SELECTA	1.000 €	7	4	8	5,95 €
Baño ultrasonidos	Branson	1.355 €	7	1	8	2,02 €
Batidora	Taurus	40 €	2	1	5	0,33 €
Cabina de flujo laminar	TELSTAR	2.250 €	7	4	6	17,86 €
Centrífuga	EPPENDORF	820 €	5	4	5	10,93 €
Espectrofotómetro	Bio Rad	9.000 €	10	1	8	9,38 €

Estufa bacteriológica	P SELECTA	915 €	10	5	8	4,77 €
Fluorímetro	BMG LABTECH	20.500 €	8	6	1	1.281,25 €
Frigorífico y congelador	ZANUSSI	300 €	10	4	1	10,00 €
Medidor de gases	OXYBABY	250 €	8	4	8	1,30 €
Micropipeta (0,5 a 5 mL)	ESAY	90 €	5	5	5	1,50 €
Micropipeta (20 a 200 µL)	ESAY	90 €	2	4	8	1,88 €
Micropipeta (200 a 1000 µL)	ESAY	90 €	2	4	8	1,88 €
Molino mezclado MM400	Retsch Biometa	8.334 €	2	4	8	173,63 €
Penetrómetro	PCE	700 €	6	4	2	19,44 €
pHmetro digital	Crison	640 €	3	4	8	8,89 €
Pipeta multicanal (20 a 300 µL)	ESAY	300 €	8	4	8	1,56 €
Purificador de agua desionizada	ELGA	5.500 €	5	4	1	366,67 €
Refractómetro	HANNA	200 €	10	1	4	0,42 €
TOTAL						1.948,09 €

6.5. Coste del personal

El XX Convenio General de la Industria Química (BOE) define 9 grupos diferentes de profesionales, lo cuales realizan diferentes tareas dentro de un laboratorio. Para la realización de este proyecto, se han necesitado tres personas (estudiante, co-director i director), les cuales pertenecen a los grupo 1, 5 y 7, respectivamente. Según el BOE (2019):

- Grupo profesional 1: realiza operaciones bajo instrucciones concretas, claramente establecidas, con un alto grado de dependencia, las cuales requieren esfuerzo y atención, y no requieren de formación específica.
- Grupo profesional 5: realización de las funciones de integrar, coordinar y supervisar la ejecución de diferentes tareas homogéneas con la responsabilidad de ordenar el trabajo de un conjunto de colaboradores. Incluye, además, la realización de tareas que, sin implicar órdenes, tienen un conjunto medio de actividad intelectual y de relaciones humanas.

- Grupo profesional 7: realización de actividades complejas con objetivos definidos y con un alto nivel de exigencia en autonomía y responsabilidad. Normalmente dirigen un conjunto de funciones que comportan una actividad técnica o profesional especializada.

Los salarios mínimos brutos anuales de los integrantes de los grupos son diferentes para cada uno:

Tabla 21. Salario mínimo bruto anual en función del grupo profesional (BOE 2019)

Cargo	Grupo profesional	Salario bruto mínimo anual (€)
Estudiante	1	15.264,57
Co-director	5	22.438,25
Director	7	31.902,94

La jornada laboral máxima anual está establecida en 1.752 horas de trabajo efectiva. Teniendo en cuenta que el coste de la seguridad social por trabajador es del 32% de su sueldo bruto, puede utilizarse la siguiente fórmula para determinar los costes de personal:

$$\text{Coste del personal (€)} = \frac{\text{SMBA}}{\text{JLMA}} \cdot \text{ht} + \text{SS} \cdot \left(\frac{\text{SMBA}}{\text{JLMA}} \cdot \text{ht} \right) = \text{Salario} + \text{SS}$$

Dónde:

SMBA: salario mínimo bruto anual (€ / año)

JLMA = jornada laboral máxima anual (h / año)

ht = horas trabajadas

SS = tasa de la seguridad social (32%)

Tabla 22. Coste del personal para la realización del proyecto

Grupo profesional	Nº de personas	Horas trabajadas	Sueldo	SS	Sueldo + SS
1	1	800	6970,12 €	2230,44 €	9200,56 €
5	1	400	5122,89 €	1629,32 €	6762,21 €
7	1	50	910,47 €	291,35 €	1201,82 €
TOTAL					17164,60 €

6.6. Coste total

En resumen, el coste total calculado del proyecto se muestra en la Tabla 23.

Tabla 23. Coste total del proyecto.

Concepto	Cantidad
Coste de las muestras	93,9 €
Coste material laboratorio	584,7€
Coste de los reactivos	186,7€
Coste de los equipos	1.948,09€
Coste del personal	17.164,60€
TOTAL	19.977,99€

6.7. Planificación del proyecto (diagrama de Gantt)

La Figura 7 muestra, de manera aproximada, la planificación de las principales operaciones para llevar a cabo el proyecto. Ésta puede ser ligeramente diferente de la realmente realizada.

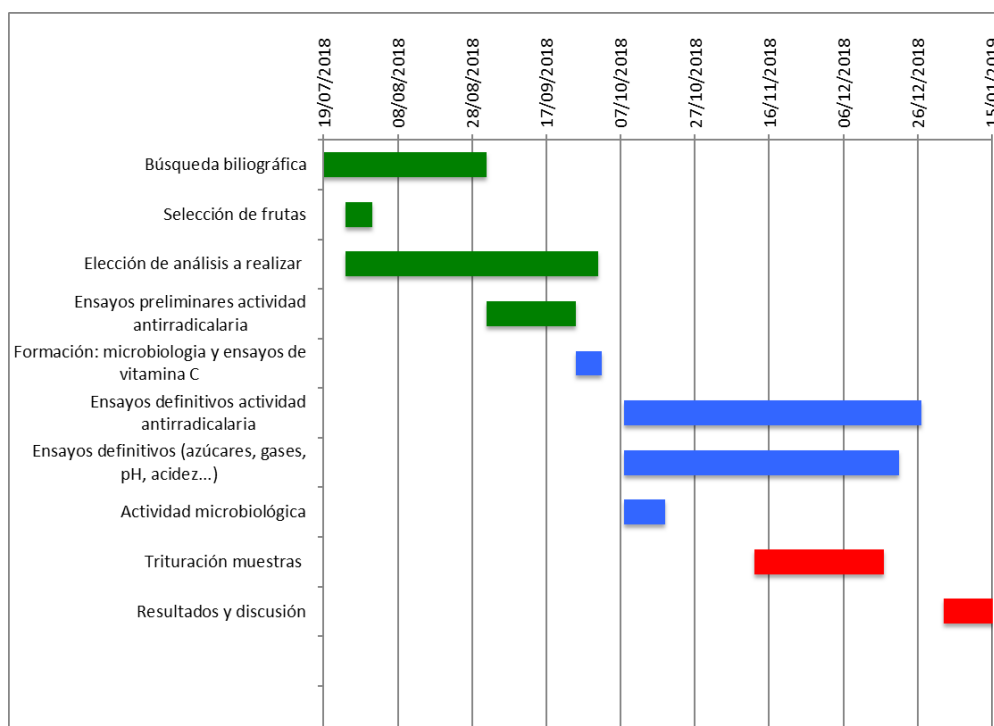


Figura 7. Diagrama de Gantt del proyecto.

Bibliografía

1. Velderrain-Rodríguez, G.R. et al. Technologies in Fresh-Cut Fruit and Vegetables. En: S.I.P. Switzerland, ed., *Minimally Processed Foods*. 1ª. Sabour (India), La Victoria (México): 2015, p. 79-103. ISBN 978-3-319-10676-2.
2. Rico, D. et al. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. En: *Trends in Food Science & Technology*. 2007, vol. 18, p. 373-386.
3. Plichta, M. y Jezewska-Zychowicz, M. Eating behaviors, attitudes toward health and eating, and symptoms of orthorexia nervosa among students. En: *Appetite*. 2019, vol. 137, p. 114-123.
4. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Promotion of Fruit and Vegetables for Health. En: . Rome: 2015. ISBN 978-92-5-108879-1.
5. Reginato, G., Mesa, K. y Ojer, M. Desarrollo del árbol y crecimiento de los frutos. En: M. Ojer, ed., *Producción de duraznos para la industria*. 1ª. Mendoza: 2011, p. 229. ISBN 9789872764203.
6. Peñuela M., A.E. Cambios físicos y químicos que ocurren durante el crecimiento y maduración de los productos hortifrutícolas y su relación con la calidad. En: *Caracterización y normalización de frutas y hortalizas*. 5ª. Chinchiná, Colombia: Cenicafé-FNC-SENA, 2004, p. 26-31. ISBN 958-97441-0-9.
7. Cortellino, G. et al. Modified atmosphere packaging for shelf life extension of fresh-cut apples. En: *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 2015, vol. 46, no. 2, p. 320-330.
8. Vermeulen, A., Devlieghere, F. y Ragaert, P. Optimal Packaging Design and Innovative Packaging Technologies for Minimally Processed Fresh Produce. En: S. Cham, ed., *Quantitative Methods for Food Safety and Quality in the Vegetable Industry*. Cham: Springer International Publishing, 2018, p. 193-212. ISBN 978-3-319-68177-1.
9. Mahajan, P. V., Luca, A. y Edelenbos, M. Impact of Mixtures of Different Fresh-Cut Fruits on Respiration and Ethylene Production Rates. En: *Journal of Food Science*. 2014, vol. 79, no. 7, p. 1366-1371.
10. Fonseca, S.C., Oliveira, F.A.R. y Brecht, J.K. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. En: *Journal of Food En*. 2002, vol. 52, p. 99-119.
11. Bidwell, R.G.S. *Fisiología vegetal*. 2a edición. Méjico: Macmillan Publishing Co., Inc., 1979. ISBN 968-463-015-8.
12. Grupo de opinion avanzado de agricultores de Citricos. Frutos climatericos. En: [en línea]. 2011. [consulta: 1 octubre 2018]. Disponible en: <http://www.tecnicoagricola.es/frutos-climatericos/>.
13. Bico, S. et al. Combined effects of chemical dip and/or carrageenan coating and/or controlled atmosphere on quality of fresh-cut banana. En: *Food Control*. 2009, vol. 20, p. 508-514.
14. Perez Cabrera, M.E. *Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo del pardeamiento enzimático en pera*. Universidad Politécnica de Valencia, 2003.

15. Oms-Oliu, G. et al. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. En: *Postharvest Biology and Technology*. 2010, vol. 57, no. 3, p. 139-148.
16. Astiasarán, I. y Alfredo Martínez, J. *Alimentos. Composición y Propiedades*. 2a. Madrid: Mc. Graw-Hill, 2000. ISBN 9788448603052.
17. Información nutricional | Maduración | Frutas. En: [en línea]. [consulta: 1 octubre 2018]. Disponible en: <http://frutas.consumer.es/info/maduracion>.
18. Especialistas en el control y modificación de las atmósferas de espacios refrigerados. Gas etileno, el destructor de frutas y verduras | Ozeano. En: [en línea]. 2017. [consulta: 1 octubre 2018]. Disponible en: <https://www.ozeano.net/es/etileno-responsable-maduracion-frutas-verduras/>.
19. George, E.F., Hall, M.A. y Klerk, G.-J. de. *Plant propagation by tissue culture. Vol. 1, The background*. Londres: Springer, 2007. ISBN 9781402050053.
20. Marassi, M.A. Reguladores. En: *Universidad Nacional del Noroeste (Dpto. Ingeniería Agrónoma)* [en línea]. 2011. [consulta: 1 octubre 2018]. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/plantas/reguladores.htm#jasmónico>.
21. AEFA (Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes). Los compuestos fenólicos como antioxidantes naturales para superar situaciones de estrés abiótico. En: [en línea]. 2011. [consulta: 1 octubre 2018]. Disponible en: <https://aeфа-agronutrientes.org/compuestos-fenolicos-para-superar-situaciones-de-estres-abiotico>.
22. Mazza, G. y Miniati, E. (Enrico). *Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains*. 1ª. Boca Ratón: CRC Press, 1993. ISBN 0849301726.
23. Serrano, I.O. *Obtención de zumos y frutos cortados con alto potencial antioxidante mediante tratamientos no térmicos*. Universitat de Lleida, 2009.
24. Miceli, A. et al. Evolution of shelf life parameters of ready-to-eat escarole (*Cichorium endivia* var. *latifolium*) subjected to different cutting operations. En: *Scientia Horticulturae*. 2019, vol. 247, p. 175-183.
25. Beirão-Da-Costa, S. et al. Influence of moderate heat pre-treatments on physical and chemical characteristics of kiwifruit slices. En: *Eur Food Res Technol*. 2008, vol. 226, p. 641-651.
26. Sharma, L., Singh Saini, C. y Sharma, H.K. Development of crosslinked sesame protein and pineapple extract-based bilayer coatings for shelf-life extension of fresh-cut pineapple. En: *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018, vol. 42, no. 2, p. 1-11.
27. Magaña Benítez, M. et al. Variaciones bioquímicas-fisiológicas y físicas de las frutas pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenadas en ambiente natural. En: *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 2013, vol. 14, no. 1, p. 21-30.
28. Radi, M. et al. Effect of Gelatin-Based Edible Coatings Incorporated with Aloe vera and Black and Green Tea Extracts on the Shelf Life of Fresh-Cut Oranges. En: *Journal of Food Quality*. Hindawi, 2017, vol. 2017, p. 1-10.

29. Oliveras López, M.J. *Calidad del aceite de oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica*. Universidad de Granada, 2005. ISBN 8433835629.
30. Leong, L.P. y Shui, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. En: *Food Chemistry*. 2002, vol. 76, p. 69-75.
31. Rodríguez, L.S. *Evaluación de las propiedades funcionales del mango durante el almacenamiento*. Universidad Miguel Hernández, 2015.
32. Gil Hernández, Á. Bases Fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. En: *Tratado de nutrición*. 2ª. Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A., 2010, p. 992. ISBN 9788498353464.
33. Hidalgo, G.-I. y Almajano, M. Red Fruits: Extraction of Antioxidants, Phenolic Content, and Radical Scavenging Determination: A Review. En: *Antioxidants*. 2017, vol. 6, no. 1, p. 7.
34. Pretel Pretel, M.T. Tendencias actuales en el envasado de fruta mínimamente procesada - Poscosecha. En: [en línea]. 2015. [consulta: 2 octubre 2018]. Disponible en: <http://www.interempresas.net/Poscosecha/Articulos/136367-Tendencias-actuales-en-el-ensado-de-fruta-minimamente-procesada.html>.
35. Ghidelli, C. y Pérez-Gago, M.B. Recent advances in modified atmosphere packaging and edible coatings to maintain quality of fresh-cut fruits and vegetables. En: *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor & Francis, 2018, vol. 58, no. 4, p. 662-679.
36. Ahvenainen, R. *Novel food packaging techniques*. 1ª. Cambridge: CRC Press, 2003. ISBN 9781855737020.
37. Šćetar, M., Kurek, M. y Galić, K. Trends in fruit and vegetable packaging—a review. En: *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*. 2010, vol. 5, p. 69-86.
38. Hagenmaier, R.D. y Shaw, P.E. Gas Permeability of Fruit Coating Waxes. En: *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1992, vol. 117, no. 1, p. 105-109.
39. Paseiro Losada, P. et al. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los envases activos e inteligentes. En: *Revista del comité científico*. 2010, vol. n3, p. 98-105.
40. Rojas-Graü, M.A. et al. The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: A review. En: *International Journal of Food Science and Technology*. 2009, vol. 44, no. 5, p. 875-889.
41. By Techdesign. ¿Qué es RFID? En: [en línea]. 2015. [consulta: 2 octubre 2018]. Disponible en: <https://www.by.com.es/blog/que-es-rfid/>.
42. AINIA Centro Tecnológico. Las 10 cosas que debes saber de la IV gama. En: [en línea]. 2010. [consulta: 2 octubre 2018]. Disponible en: <https://www.ainia.es/noticias/seguridad-alimentaria/las-10-cosas-que-debes-saber-de-la-iv-gama/>.
43. AINIA. Nuevos avances conservación de frutas y hortalizas: Recubrimientos comestibles y aditivos naturales. En: [en línea]. [consulta: 2 octubre 2018]. Disponible en:

<https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/formacion/nuevos-avances-conservacion-de-frutas-y-hortalizas-recubrimientos-comestibles-y-aditivos-naturales/>.

44. Gustavsson, J. et al. Global food losses and food waste - Extent, causes and prevention. En: . Rome: 2011. ISBN 978-92-5-107205-9.

45. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Key facts on food loss and waste you should know. En: [en línea]. [consulta: 17 abril 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/save-food/resources/keyfindings/en/>.

46. Maris Alzamora, S. et al. Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas. Manual de capacitación. En: . Rome: 2004.

47. Zuccherelli, G. y Zuccherelli, G. *La actinidia (kiwi)*. 1ª. Madrid: 1990. ISBN ISBN 84-7114-116-7.

48. Fundación Eroski Consumer. Propiedades del Kiwi. En: [en línea]. 2015. [consulta: 30 marzo 2019]. Disponible en: <http://frutas.consumer.es/kiwi/propiedades>.

49. Juan Carlos García Rubio y Guillermo García González de Lena Marta Ciordia Ara. *El cultivo del kiwi*. 1a. España: I. Gofer, 2015. ISBN 978-84-608-1499-3.

50. (Bioenciclopedia), E. de la vida. Kiwi - Información y Características. En: [en línea]. 2015. [consulta: 17 febrero 2019]. Disponible en: <https://www.bioenciclopedia.com/kiwi/>.

51. Lo, A.A., Harbinson, J. y Kooten, O. Van. General introduction: Mangoes. En: *Wageningen Agricultural University Papers*. 2005, vol. 1, no. October, p. 1-21.

52. USDA. Taxonomy mangifera indica. En: *Germplasm Resources Information Network (GRIN-Taxonomy)* [en línea]. Beltsville, Maryland: 2019. [consulta: 30 marzo 2019]. Disponible en: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=23351>.

53. Lauricella, M. et al. Multifaceted health benefits of Mangifera indica L. (Mango): The inestimable value of orchards recently planted in sicilian rural areas. En: *Nutrients*. 2017, vol. 9, no. 5.

54. Propiedades del mango. En: [en línea]. [consulta: 30 marzo 2019]. Disponible en: <http://frutas.consumer.es/mango/propiedades>.

55. Badenes, M.L. Citrus. En: D. Hawkins Byrne, ed., *Fruit Breeding*. New York: Springer, 2012, p. 623-662. ISBN 9781441907639.

56. Hervalejo, A., Salguero, A. y Arenas, F. Variedades de cítricos de interes comercial para la industria de zumo. En: *Vida Rural*. 2010, p. 62-66.

57. Martínez, S. Características y beneficios de la naranja: Principales nutrientes y recetas. En: *Dietistas nutricionistas* [en línea]. 2016. [consulta: 23 marzo 2019]. Disponible en: <https://www.dietistasnutricionistas.es/caracteristicas-y-beneficios-nutricionales-de-la-naranja/>.

58. Fundación Eroski Consumer. Propiedades de la naranja. En: [en línea]. 2015. [consulta: 30 marzo 2019]. Disponible en: <http://frutas.consumer.es/naranja/propiedades>.

59. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Previsión, producción y comercio de frutas tropicales. En: 2015 [en línea]. [consulta: 30 marzo 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/y5143s/y5143s13.htm>.
60. Ketnawa, S., Chaiwaut, P. y Rawdkuen, S. Extraction of bromelain from pineapple peels. En: *Food Science and Technology*. 2011, vol. 17, no. 4, p. 395-402.
61. (Bioenciclopedia), E. de la vida. Piña - Información y Características. En: [en línea]. 2015. [consulta: 23 marzo 2019]. Disponible en: <https://www.bioenciclopedia.com/pina/>.
62. Lobo, M.G. y Yahia, E. Biology and postharvest physiology of pineapple. En: M.G. Lobo y R.E. Paull, eds., *Handbook of Pineapple Technology: Production, Postharvest Science, Processing and Nutrition*. 1. Tenerife: John Wiley & Sons, Ltd., 2017, p. 39-61. ISBN 1118967380.
63. Fundación Eroski Consumer. Propiedades de la piña. En: [en línea]. 2015. [consulta: 30 marzo 2019]. Disponible en: <http://frutas.consumer.es/pina/propiedades>.
64. Kader, A.A. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. 3a. Oakland, California: University of California, Agricultural and Natural Resources, 2002. ISBN 1-879906-51-1.
65. Marqués Villavecchia (coord.), A.M., Fusté Munné, M.C. y Farfán Sellarés, M. *Manual de pràctiques de microbiologia I i II*. 1. Barcelona: 2015. ISBN 978-84-475-3891-1.
66. Correa Navarro, Y.M. y Rivera Giraldo, J.D. Organic Acids Evaluation in Commercial Fruit Drink By High Performance Liquid. En: *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. 2015, vol. 14, no. 1, p. 1-6.
67. Toivonen, P.M.A. y Brummell, D.A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. En: *Postharvest Biology and Technology*. 2008, vol. 48, p. 1-14.
68. Beirao-da-Costa, S. et al. Alternative Sanitizing Methods to Ensure Safety and Quality of Fresh-Cut Kiwifruit. En: *Journal of Food Processing and Preservation*. 2014, vol. 38, no. 1, p. 1-10.
69. Hai Nguyen, H. et al. The evolution of quality characteristics of mango piece after pasteurization and during shelf life in a mango juice drink. En: *European Food Research and Technology*. 2016, vol. 242, p. 703-712.
70. Rocculi, P. et al. Effect of 1-MCP treatment and N₂O MAP on physiological and quality changes of fresh-cut pineapple. En: *Postharvest Biology and Technology*. 2009, vol. 51, p. 371-377.
71. George, D.S. et al. Effects of Ultraviolet Light (UV-C) and Heat Treatment on the Quality of Fresh-Cut Chokanan Mango and Josephine Pineapple. En: *Journal of Food Science*. 2015, vol. 80, no. 2, p. S426-S434.
72. Mónica, I. et al. Determination of the maturity stages of purple passion fruit. En: *Agronomía Colombiana*. 2007, vol. 25, no. 1, p. 83-95.
73. Tovar, B., García, H.S. y Mata, M. Physiology of pre-cut mango II. Evolution of organic acids. En: *Food Research International*. 2001, vol. 34, p. 705-714.
74. Kuskoski, E.M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad

antioxidante en pulpa de frutos. En: *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. SBCTA, 2005, vol. 25, no. 4, p. 726-732.

75. Assefa, A.D., Keum, Y.-S. y Saini, R.K. A comprehensive study of polyphenols contents and antioxidant potential of 39 widely used spices and food condiments. En: *Journal of Food Measurement and Characterization*. Springer US, 2018, vol. 12, no. 3, p. 1548-1555.

76. Amarante, C.V.T. do et al. Phenolic content and antioxidant activity of fruit of Brazilian genotypes of feijoa. En: *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Embrapa Informação Tecnológica, 2017, vol. 52, no. 12, p. 1223-1230.

77. Sun, J. et al. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, vol. 50, p. 7449-7454.

78. Shan, M.-Q. et al. Comparative analysis of sixteen active compounds and antioxidant and anti-influenza properties of Gardenia jasminoides fruits at different times and application to the determination of the appropriate harvest period with hierarchical cluster analysis. En: *Journal of Ethnopharmacology*. 2019, vol. 233, p. 169-178.

79. Manochai, B. et al. Evaluation of antioxidant activities, total phenolic content (TPC), and total catechin content (TCC) of 10 sugar apple (*Annona squamosa* L.) cultivar peels grown in Thailand. En: *Food Science and Technology*. SBCTA, 2018, vol. 38, no. 1, p. 294-300.

80. Robles-Sánchez, R.M. et al. Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut «Kent» mango (*Mangifera indica* L.). En: *Postharvest Biology and Technology*. 2009, vol. 51, p. 384-390.

81. Wang, Y. et al. Evaluation of biochemical components and antioxidant capacity of different kiwifruit (*Actinidia* spp.) genotypes grown in China. En: *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. Taylor & Francis, 2018, vol. 32, no. 3, p. 558-565.

82. Siti Azima, A.M., Noriham, A. y Manshoor, N. Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata* var. *elliptica*, *Clitoria ternatea*, *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. En: *Journal of Functional Foods*. 2017, vol. 38, p. 232-241.

83. Vinson, J.A. et al. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Fruits. En: *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001, vol. 49, p. 5315-5321.

84. Djioa, T. et al. Improving the storage of minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) by hot water treatments. En: *Postharvest Biology and Technology*. 2009, vol. 52, p. 221-226.

85. Agar, I.T. et al. Postharvest CO₂ and Ethylene Production and Quality Maintenance of Fresh-Cut Kiwifruit Slices. En: *Journal of Food Science*. 1999, vol. 64, no. 3, p. 433-440.

86. Pascual Andersor, M. del R. *Microbiología alimentaria*. 2a. Madrid: Díaz de Santos, 1999. ISBN 978-84-7978-424-9.

87. Tomadoni, B. et al. Gellan-based coatings incorporated with natural antimicrobials in fresh-cut strawberries: Microbiological and sensory evaluation through refrigerated storage. En: . 2018, vol. 97, p. 384-389.



Anexos

Anexo I – Correlaciones TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC

A continuación se adjuntan los datos primarios de correlación entre los diferentes métodos de actividad antirradicalaria.

Tabla 24. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC del kiwi.

KIWI	TPC	DPPH	ABTS	ORAC
DPPH	0,917			
	0,010			
ABTS	-0,316	-0,817		
	0,542	0,732		
ORAC	-0,350	-0,110	0,930	
	0,496	0,836	0,007	
FRAP	0,474	0,130	-0,716	-0,841
	0,343	0,806	0,110	0,036

Tabla 25. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC del mango.

MANGO	TPC	DPPH	ABTS	ORAC
DPPH	0,173			
	0,780			
ABTS	0,879	0,490		
	0,049	0,402		
ORAC	0,701	0,076	0,380	
	0,187	0,904	0,529	
FRAP	-0,180	-0,583	-0,215	-0,545
	0,772	0,302	0,729	0,342

Tabla 26. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC de la naranja.

NARANJA	TPC	DPPH	ABTS	ORAC
DPPH	0,831			
	0,040			
ABTS	-0,124	-0,010		
	0,815	0,984		
ORAC	0,209	-0,330	-0,145	
	0,691	0,523	0,784	
FRAP	0,055	-0,159	-0,567	0,530
	0,917	0,764	0,241	0,279

Tabla 27. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC de la piña.

PIÑA	TPC	DPPH	ABTS	ORAC
DPPH	-0,161			
	0,761			
ABTS	0,757	0,003		
	0,081	0,996		
ORAC	-0,381	0,661	0,096	
	0,456	0,153	0,857	
FRAP	0,746	-0,289	0,689	0,000
	0,089	0,579	0,130	1,000

Tabla 28. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC del kiwi del bol mix.

KIWI MIX	TPC	DPPH	ABTS	FRAP
DPPH	0,404			
	0,045			
ABTS	0,307	0,192		
	0,135	0,359		
FRAP	0,638	0,195	0,114	
	0,001	0,349	0,588	
ORAC	0,466	-0,073	0,174	0,186
	0,019	0,727	0,407	0,374

Tabla 29. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC del mango del bol del mix.

MANGO MIX	TPC	DPPH	ABTS	FRAP
DPPH	0,237			
	0,254			
ABTS	0,687	0,009		
	0,000	0,965		
FRAP	0,679	0,211	0,619	
	0,000	0,311	0,001	
ORAC	-0,292	-0,269	0,271	-0,174
	0,156	0,193	0,191	0,407

Tabla 30. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC de la naranja del bol del mix.

NARANJA MIX	TPC	DPPH	ABTS	FRAP
DPPH	0,266			
	0,199			
ABTS	0,038	-0,430		
	0,857	0,032		
FRAP	0,072	0,059	-0,163	
	0,732	0,778	0,436	
ORAC	0,107	0,124	0,109	0,155
	0,612	0,556	0,603	0,459

Tabla 31. Correlaciones entre los métodos TPC, DPPH, ABTS, FRAP y ORAC de la piña del bol del mix.

PIÑA MIX	TPC	DPPH	ABTS	FRAP
DPPH	-0,002			
	0,991			
ABTS	0,452	-0,108		
	0,023	0,607		
FRAP	0,578	0,520	-0,096	
	0,002	0,008	0,649	
ORAC	-0,205	0,296	-0,408	0,091
	0,327	0,151	0,043	0,665

Anexo II – Seguimiento de la evolución de la actividad microbacteriana

Agar PCA:

A continuación, se muestran las placas de las diferentes frutas con agar PCA, para los tiempos 0 y 4 horas, 1, 2, 4 y 6 días.

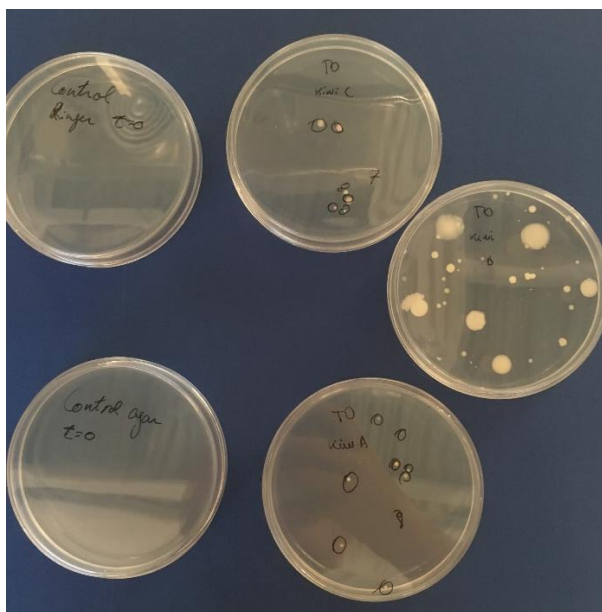


Figura 8. Resultados placas kiwi para el tiempo 0h.

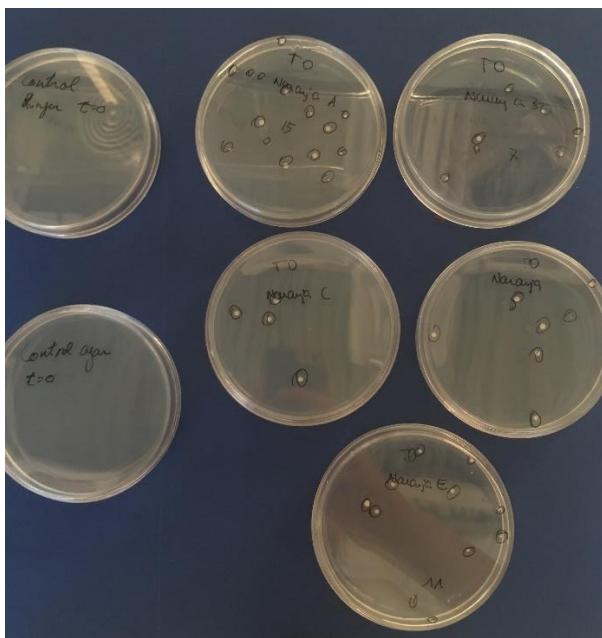


Figura 9. Resultados placas naranja para el tiempo 0h.

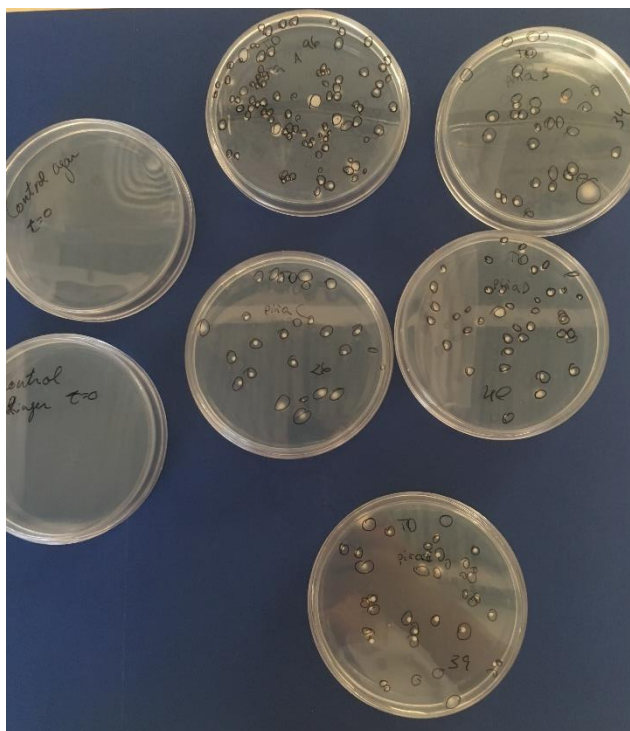


Figura 10. Resultados placas piña para el tiempo 0h.

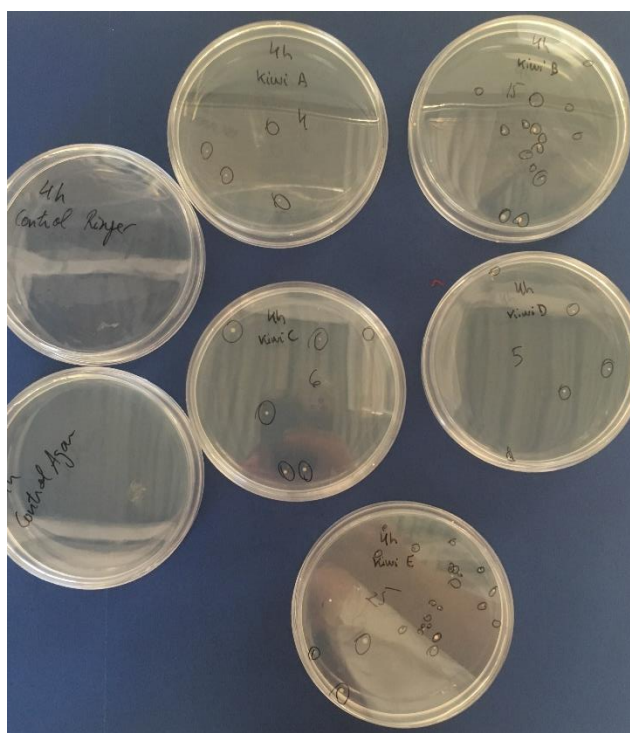


Figura 11. Resultados placas kiwi para el tiempo 4h.

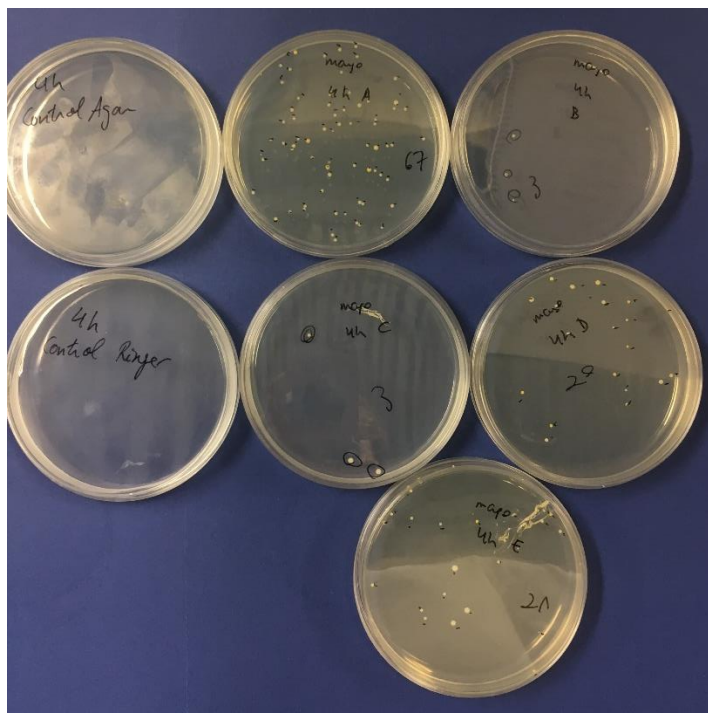


Figura 12. Resultados placas mango para el tiempo 4h.

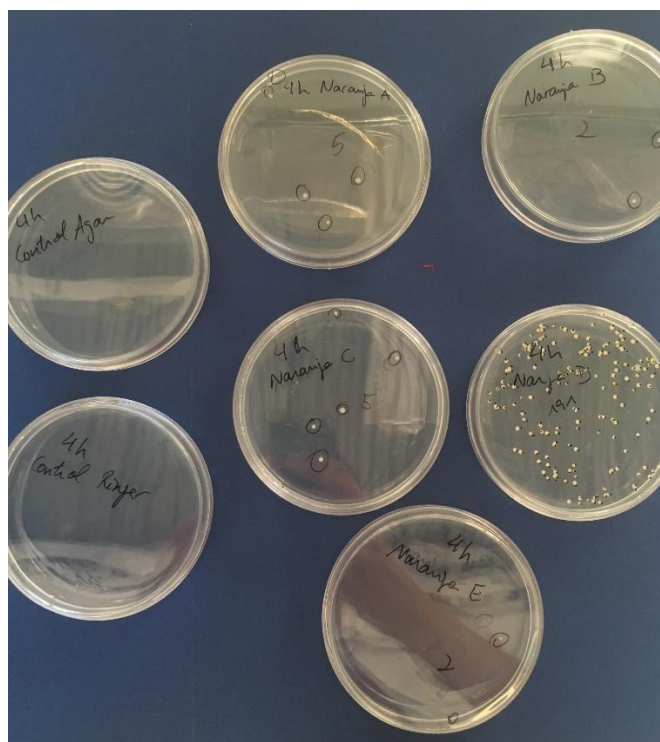


Figura 13. Resultados placas naranja para el tiempo 4h.

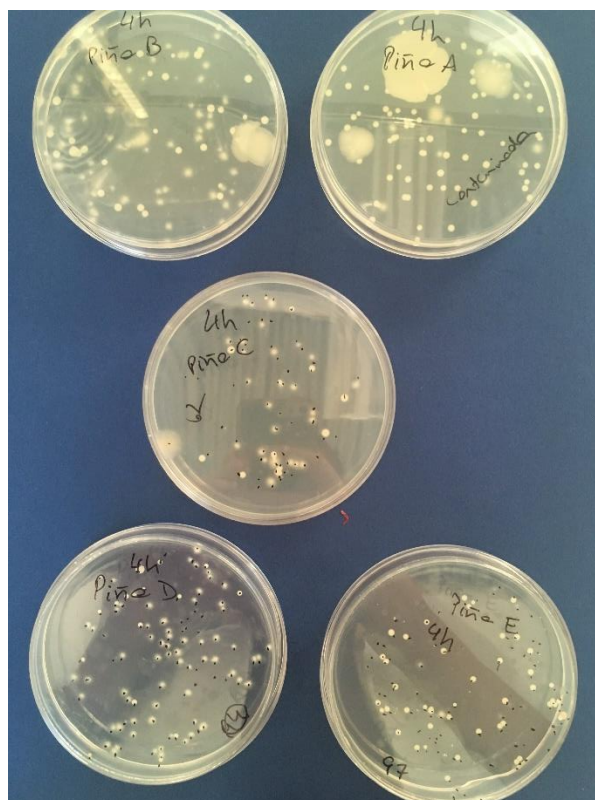


Figura 14. Resultados placas piña para el tiempo 4h.

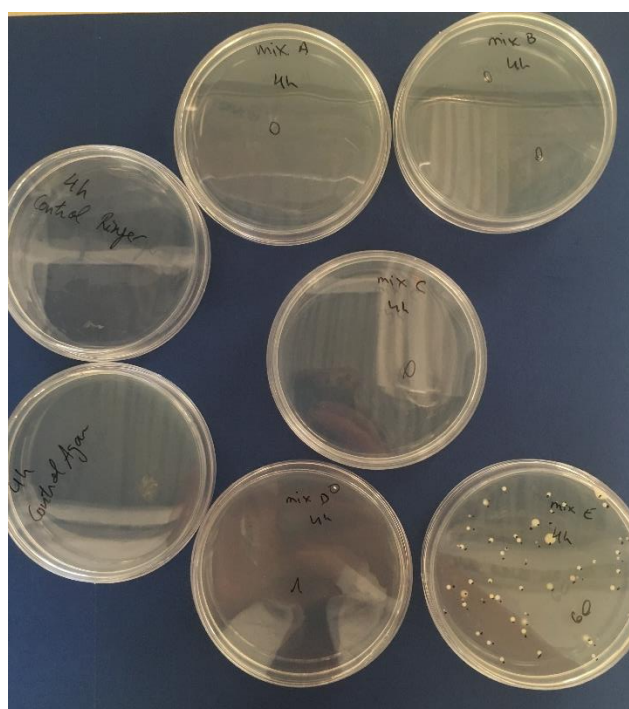


Figura 15. Resultados placas mix para el tiempo 4h.

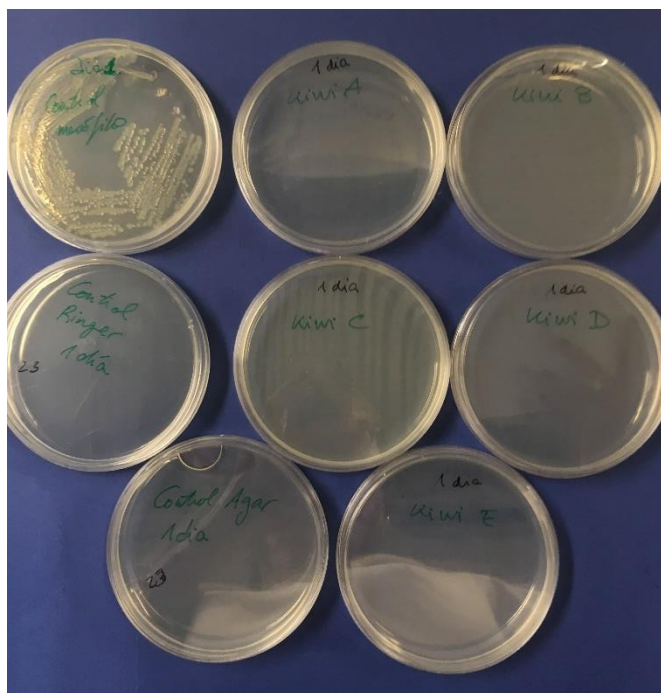


Figura 16. Resultados placas kiwi para el tiempo 1 día.

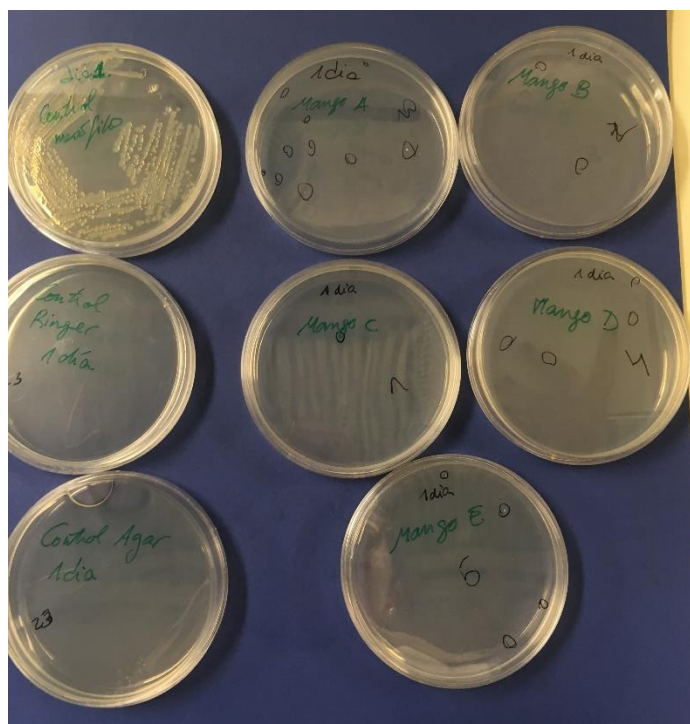


Figura 17. Resultados placas mango para el tiempo 1 día.

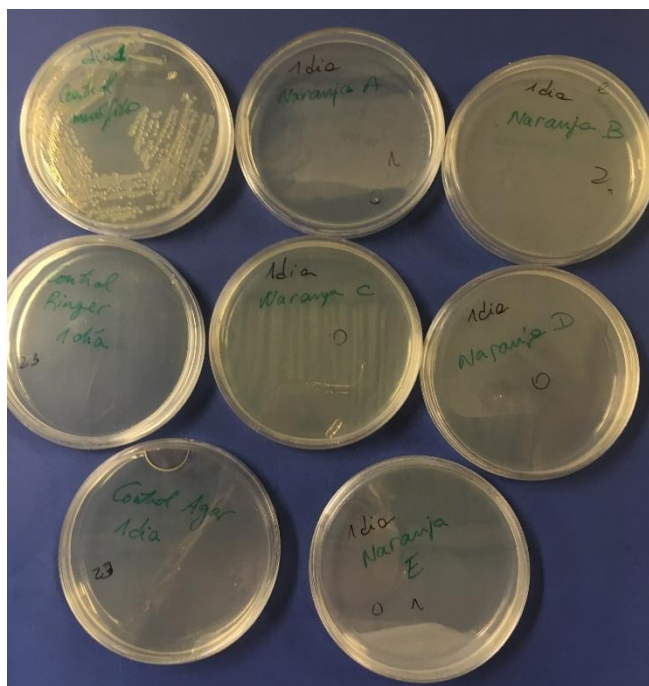


Figura 18. Resultados placas naranja para el tiempo 1 día.

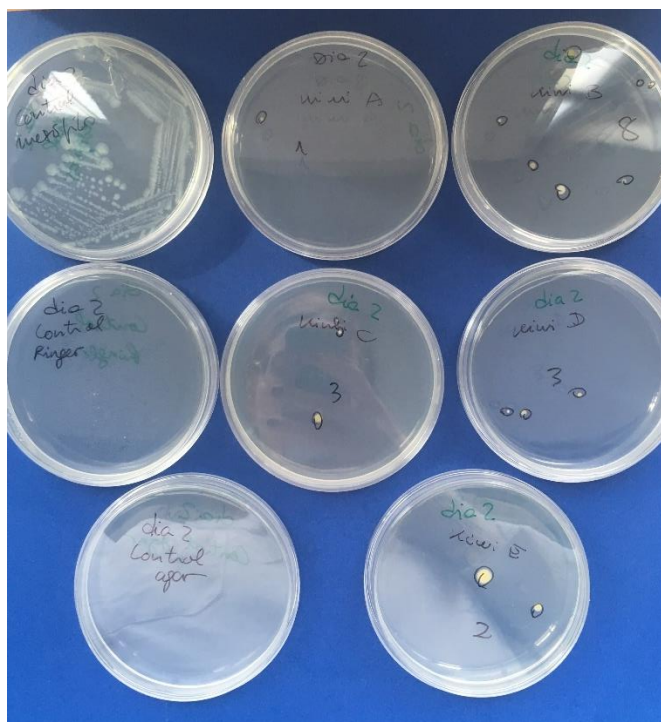


Figura 19. Resultados placas kiwi para el tiempo 2 días.

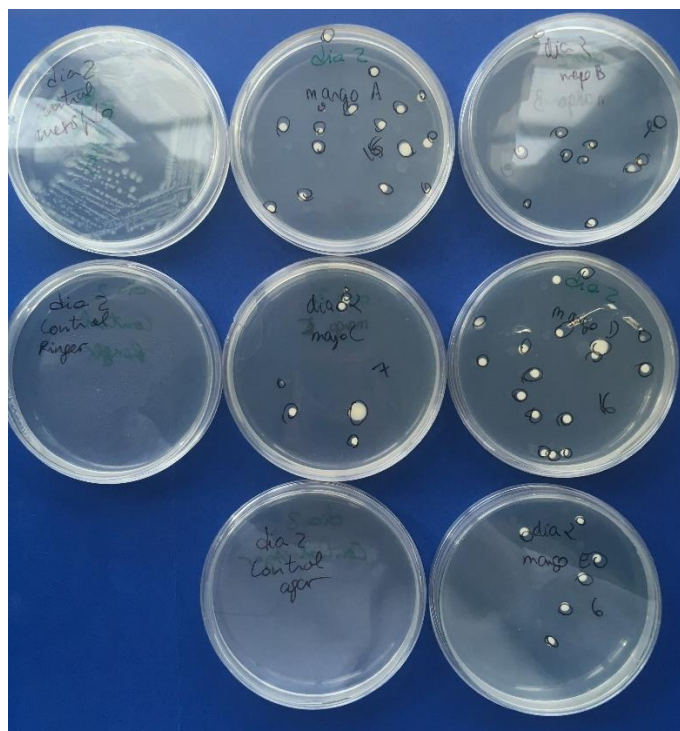


Figura 20. Resultados placas mango para el tiempo 2 días.

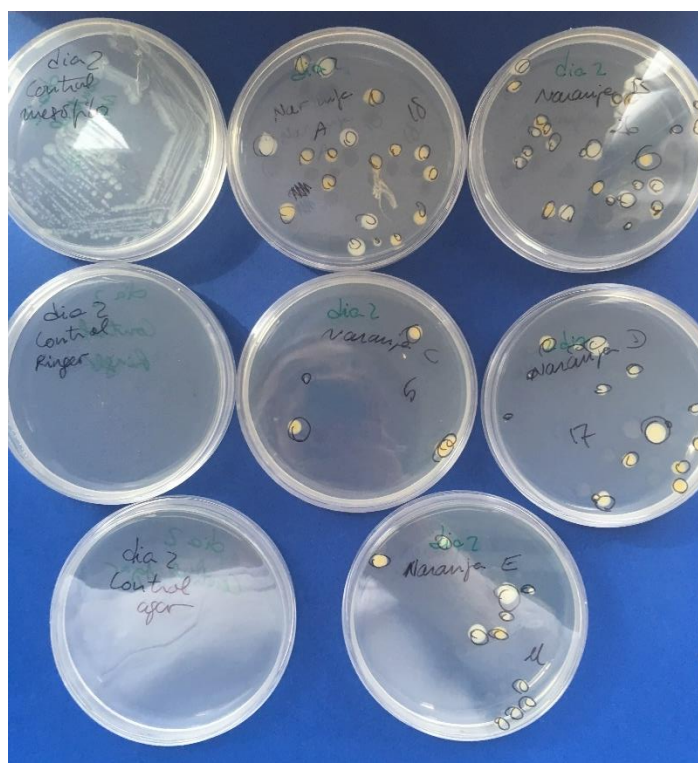


Figura 21. Resultados placas naranja para el tiempo 2 días.

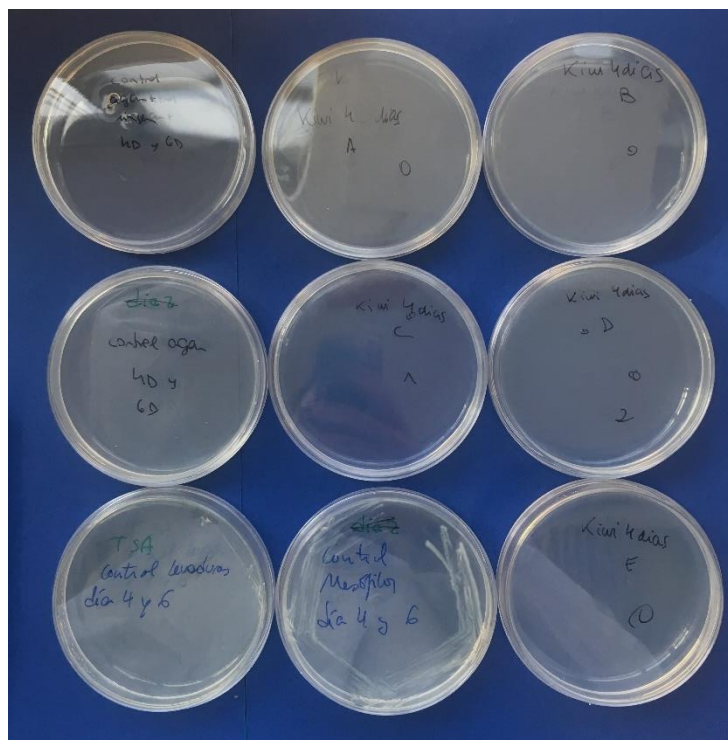


Figura 22. Resultados placas kiwi para el tiempo 4 días.

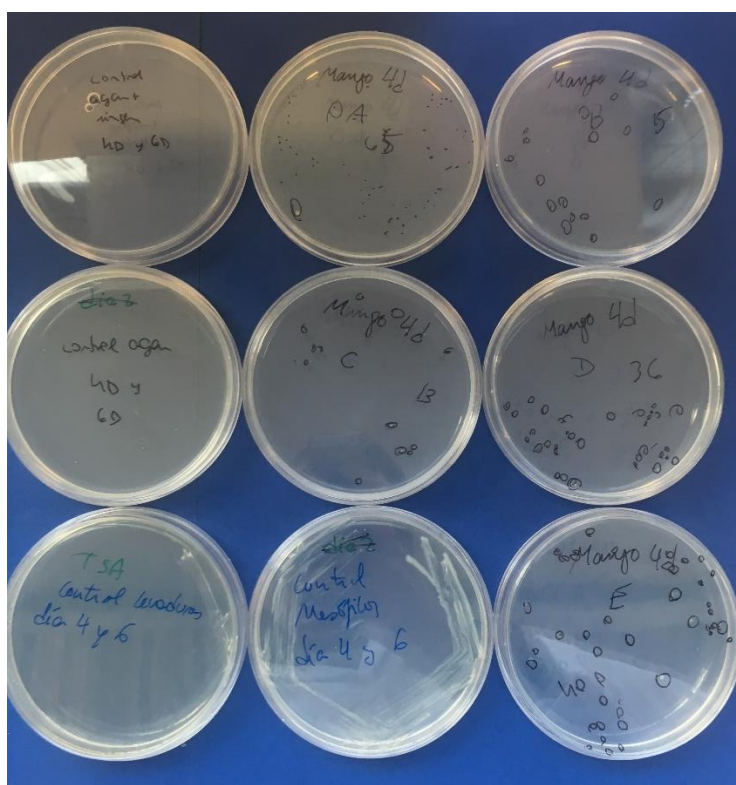


Figura 23. Resultados placas mango para el tiempo 4 días.

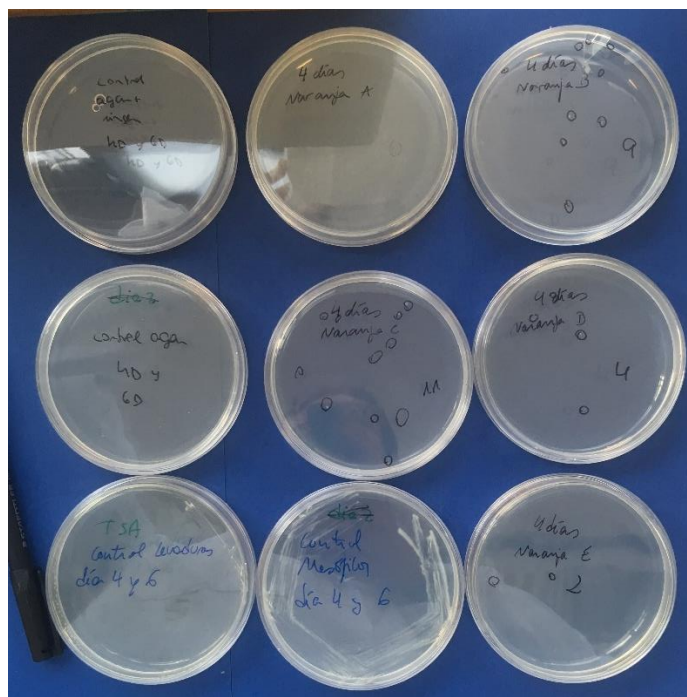


Figura 24. Resultados placas naranja para el tiempo 4 días.

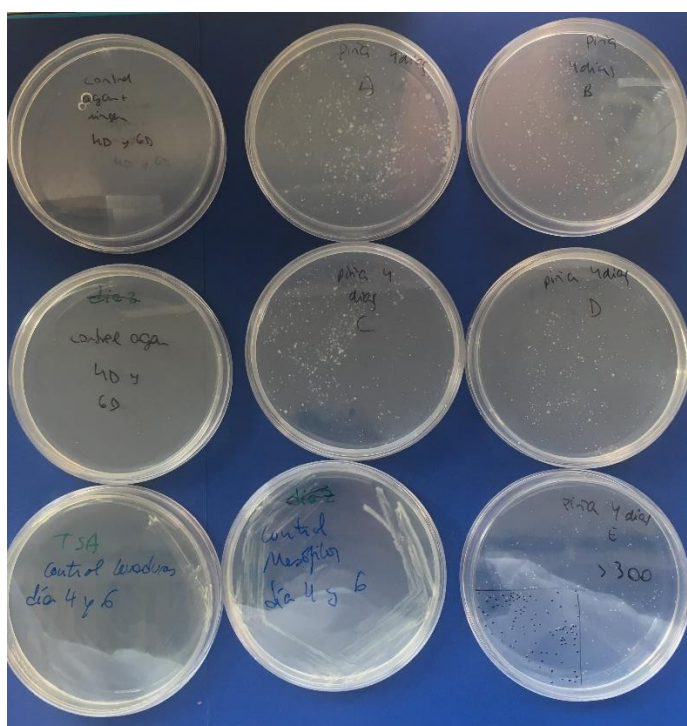


Figura 25. Resultados placas piña para el tiempo 4 días.

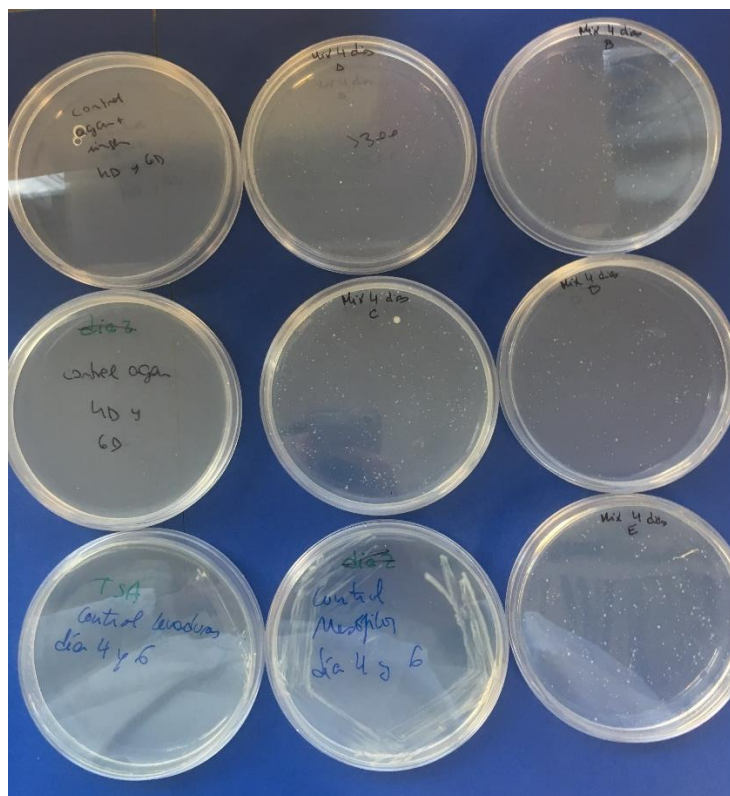


Figura 26. Resultados placas mix para el tiempo 4 días.

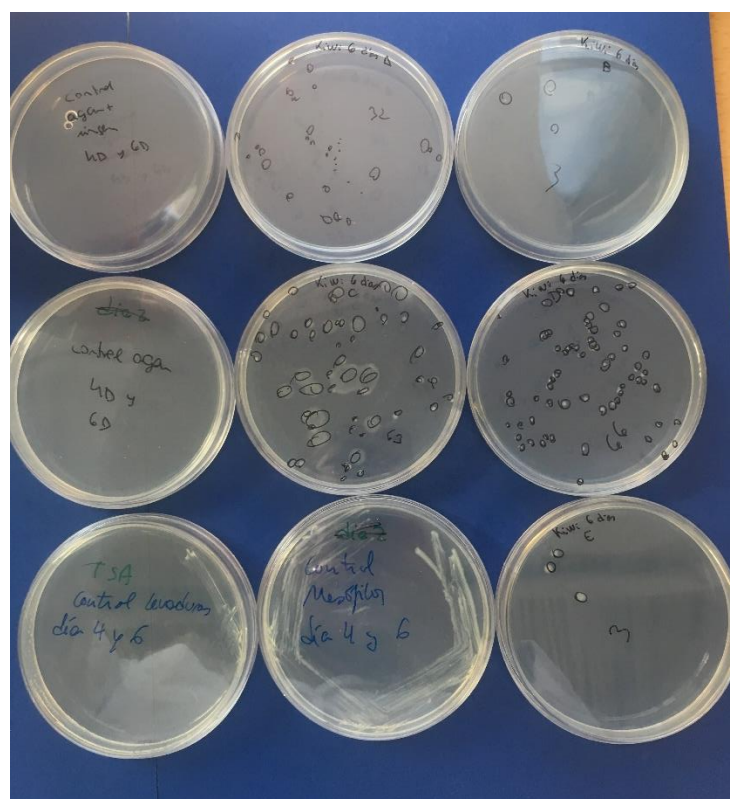


Figura 27. Resultados placas kiwi para el tiempo 6 días.

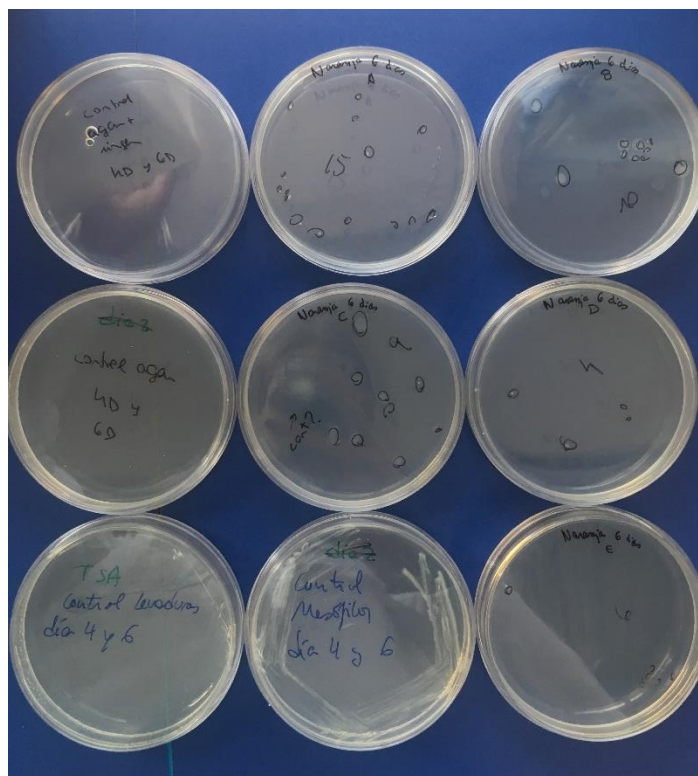


Figura 28. Resultados placas naranja para el tiempo 6 días.

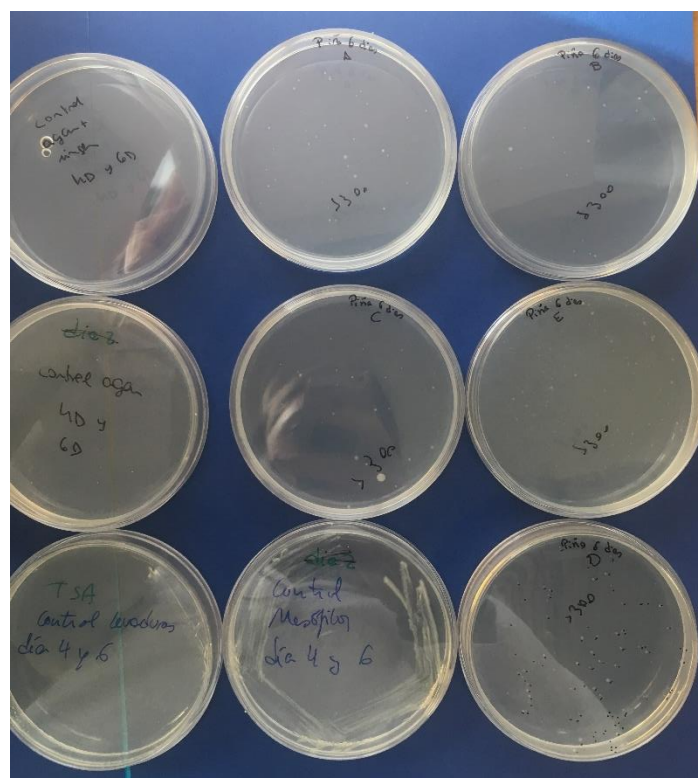


Figura 29. Resultados placas piña para el tiempo 6 días.

Agar TSA:

A continuación, se muestran las placas de las diferentes frutas con agar TSA, para los tiempos 0 y 4 horas, 1, 2, 4 y 6 días.

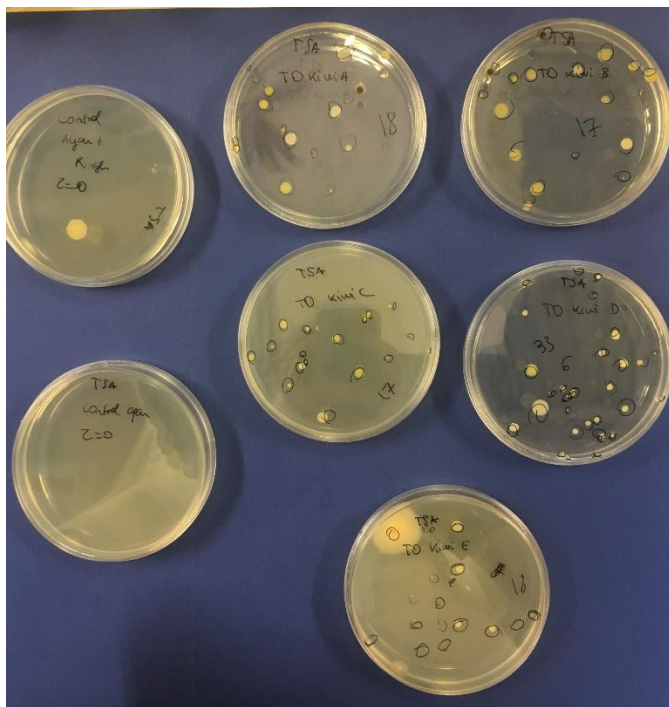


Figura 30. Resultados placas kiwi para el tiempo 0h.

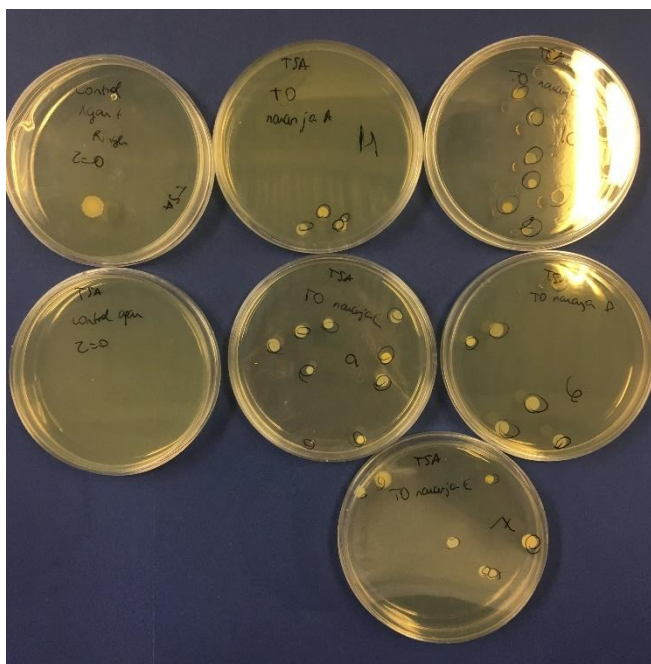


Figura 31. Resultados placas naranja para el tiempo 0h.

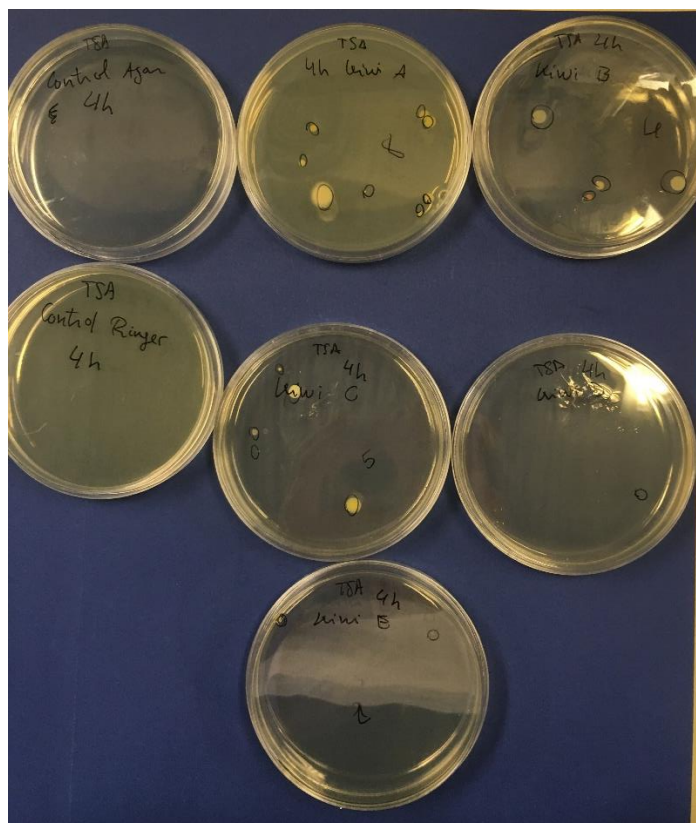


Figura 32. Resultados placas kiwi para el tiempo 4h.

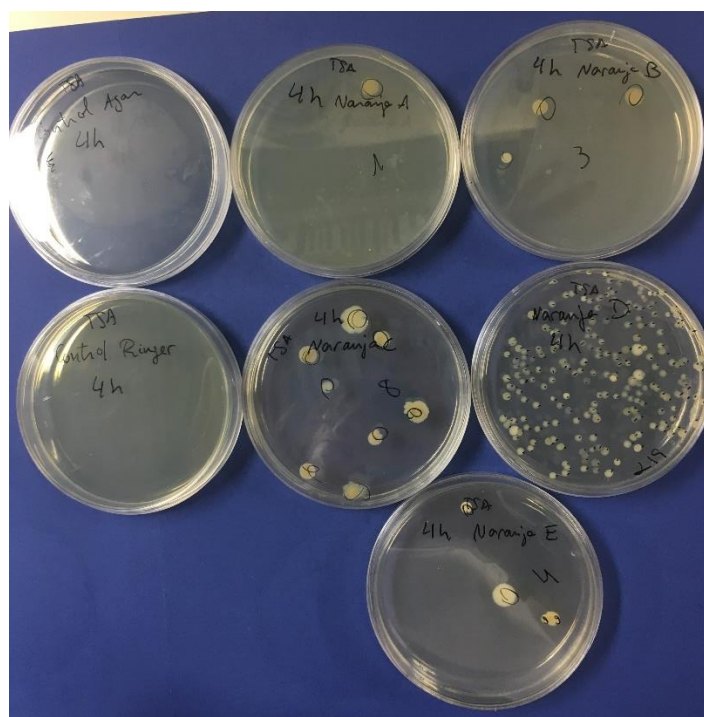


Figura 33. Resultados placas naranja para el tiempo 4h.

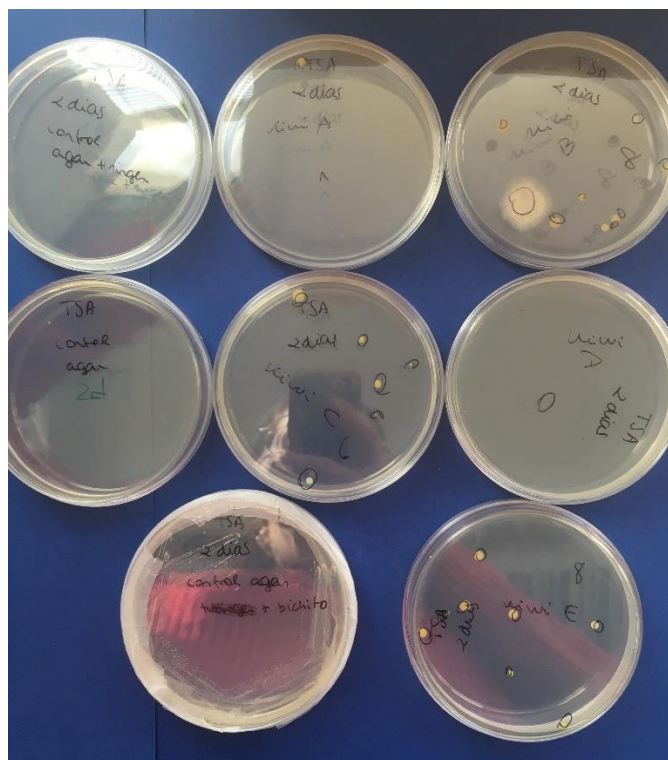


Figura 34. Resultados placas kiwi para el tiempo 2 días.

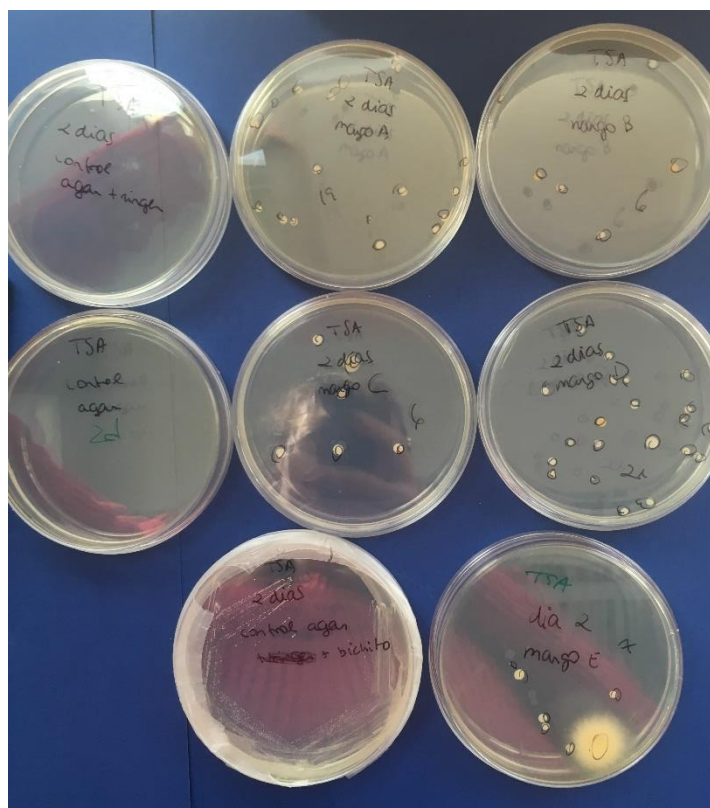


Figura 35. Resultados placas mango para el tiempo 2 días.

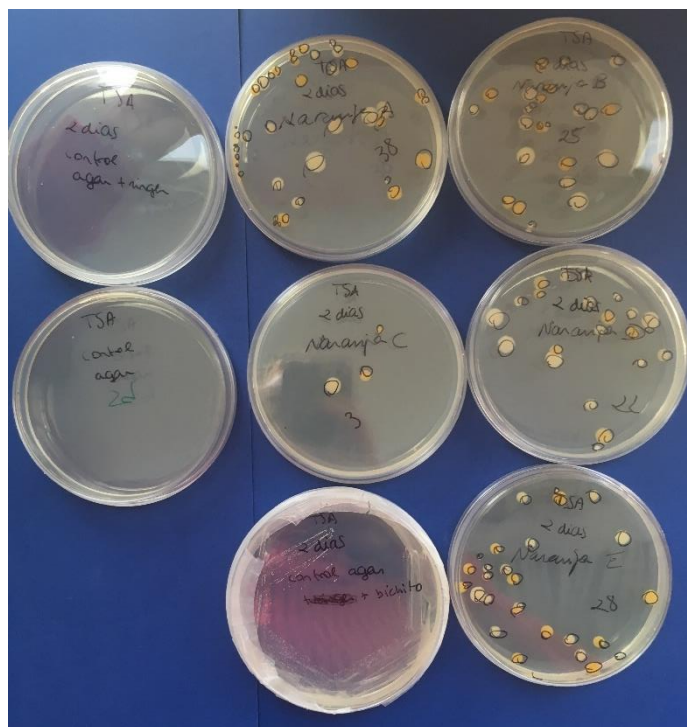


Figura 36. Resultados placas naranja para el tiempo 2 días.

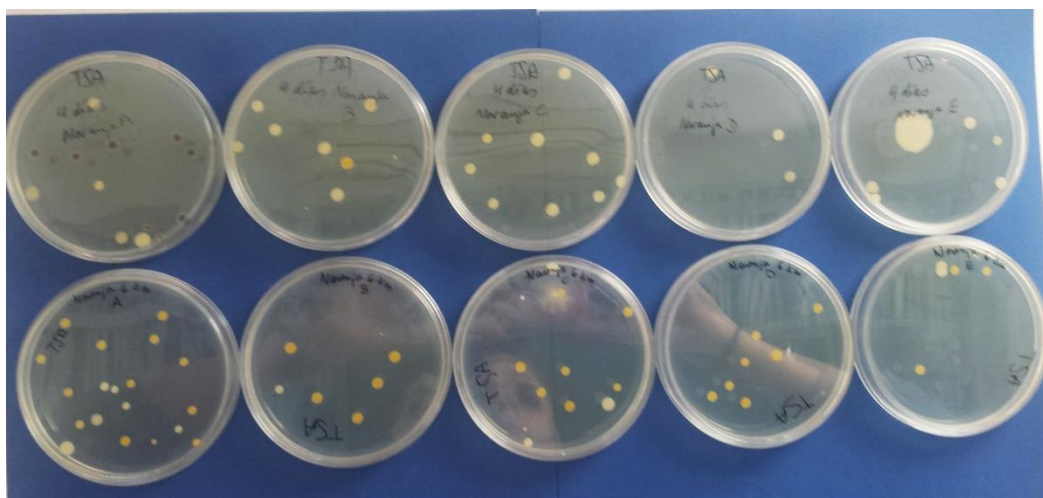


Figura 37. Resultados placas naranja 4 y 6 días.